BAND 28, Heft 1 NOVEMBER 1956

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. T. Hemmi, Kyoto / Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. Köhler, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Canberra / Prof. Dr. H. M. Quanjer, Wageningen Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest / Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann Zürich
M. Klinkowski Aschersleben
H. Richter Berlin-Dahlem

Mit 52 Abbildungen

1956
PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 28 **Heft 1** *S. 1—112 Berlin 1956*

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
3 DEC 1956

INHALT

Abhandlungen

SCHMELZER, K., Beiträge zur Kenntnis der Übertragbarkeit von Viren durch *Cuscuta*-Arten. Mit 20 Abb. 1

BERCKS, R. und GEHRING, F., Über Verwandtschaftsbeziehungen und Konzentrationsverhältnisse bei Viren der Tabak-Ringspot-Gruppe. Mit 2 Abb. 57

MÜLLER, K. O. and MUNRO, J., The Affinity of Potato Virus Y Infected Potato Tissues for Dilute Vital Stains. With 3 figures 70

QUANTZ, L., Zum Nachweis des Luzernemosaikvirus in Deutschland und Italien. Mit 16 Abb. 83

HILLE, M. und BRANDES, J., Elektronenmikroskopische Untersuchung der Sporenoberfläche einiger *Ustilago*-Arten. Mit 11 Abb. 104

Besprechungen 110

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.
„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.
Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19.
Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.
Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Richter, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Richter vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 10—12 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 24,60 DM **Einzelpreis 27,— DM**

Aus dem Phytopathologischen Institut der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
und der Biologischen Zentralanstalt
der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin,
Institut für Phytopathologie Aschersleben
Direktor: Prof. Dr. M. Klinkowski

Beiträge zur Kenntnis der Übertragbarkeit von Viren durch *Cuscuta*-Arten

Von

KLAUS SCHMELZER

Mit 20 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — A. Material und Methoden. a) Die Seidearten; b) Die Viren; c) Methodik und Testpflanzen. B. Experimentelle Untersuchungen. 1. Gurkenmosaik-Virus. a) Übertragungen auf systemisch erkrankende Wirte; b) Übertragungen auf lokal erkrankende Wirte; c) Mikroskopische Untersuchungen lokal erkrankter Wirte; d) Die Seidearten als Viruswirte; e) Prämunitätsversuche an Seide. 2. Luzernemosaik-Virus. a) Übertragungsversuche; b) Virusnachweis in Seide. 3. Tabakmauche-Virus. a) Übertragungsversuche; b) Virusnachweis in Seide; c) Die Seidearten als Viruswirte; d) Krankheitserscheinungen an der Seide. 4. Bronzeflecken-Virus der Tomate. 5. Vergilbungs-Virus der Rübe. 6. Grünscheckungsmosaik-Virus der Gurke. 7. Gelbes Bohnenmosaik-Virus. 8. Y- und Bukett-Virus der Kartoffel. 9. X-Virus der Kartoffel. 10. Tabakätzmosaik-Virus. 11. Tabakmosaik-Virus. a) Übertragungs- und Nachweisversuche; b) Versuche über die Beziehungen zwischen Seide und Virus; c) Abänderung des Symptombildes nach Seidepassage. — C. Diskussion. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

Einleitung

Die *Cuscuta*-Arten haben wegen ihrer eigenartigen Lebensweise die besondere Aufmerksamkeit der Botaniker auf sich gezogen. Vor anderthalb Jahrzehnten sind diese Schmarotzerpflanzen auch für die pflanzliche Virusforschung bedeutungsvoll geworden. Als erster Autor berichtete BENNETT (1940 a) über gelungene Versuche, pflanzliche Viren durch Seide zu über-

tragen. Unabhängig von ihm hatte F. JOHNSON ebenfalls diese Frage aufgegriffen, er teilte seine Ergebnisse 1941 mit. Später stellte sich wie bei so vielen naturwissenschaftlichen Problemen heraus, daß auch der Einsatz von *Cuscuta* als Virusvektor durch weitere Forscher bereits geraume Zeit vorher experimentell in Angriff genommen bzw. gedanklich in Erwägung gezogen worden war (MACLEOD, GÜSSOW).

In einer großen Zahl von Veröffentlichungen ist seitdem über Virusübertragungsversuche mit Seide berichtet worden. Es würde zu weit führen, sie auch nur annähernd vollständig im Rahmen der vorliegenden Arbeit nennen zu wollen. Nur soviel sei gesagt, daß Versuche in dieser Richtung bisher mit etwa fünfzig verschiedenen Virusarten veröffentlicht wurden und daß, soweit ich ersehen konnte, die folgenden *Cuscuta*-Arten auf ihre Eignung als Vektoren zur Prüfung kamen: *Cuscuta americana* L., *C. australis* R. Br., *C. californica* Choisy, *C. campestris* Yunck., *C. gronovii* Willd., *C. indecora* Choisy, *C. japonica* Choisy, *C. polygonorum* Engelm., *C. sandwichiana* Choisy, *C. subinclusa* Dur. et Hilg. und *C. tasmanica* Engelm. Mit Ausnahme von *Cuscuta japonica,* die der Untergattung *Monogyna* angehört, sind die angeführten Seidearten der Untergattung *Grammica* zuzurechnen. Insgesamt umfaßt die Gattung *Cuscuta* nach der neuesten systematischen Bearbeitung durch YUNCKER (1932) in ihren drei Untergattungen mehr als 150 Arten.

Nachdem in einer Reihe von Arbeiten verschiedene Grundfragen der Virusübertragung durch Seide aufgegriffen worden waren, fand eine relativ geringe Anzahl erprobter *Cuscuta*-Arten hauptsächlich als bloße Vektoren der verschiedensten Viren Verwendung, ohne daß auf die weitere Bearbeitung des Problems Wirtspflanze-Schmarotzer-Virus besonderer Wert gelegt wurde. So ist bisher nur wenig darüber bekannt, wie weit sich die Seidearten in bezug auf ihre Vektoreigenschaften unterscheiden. Auch über Virussymptome an *Cuscuta* sind die Kenntnisse nur gering. Hinsichtlich der Übertragbarkeit des Tabakmosaik-Virus durch den Schmarotzer bestehen noch Unklarheiten. Die Frage der Übertragbarkeit verschiedener Virusstämme ist kaum bearbeitet worden. Ob es zu Prämunitätserscheinungen bei Virusversuchen an Seide kommt, hat noch niemand verfolgt.

In der vorliegenden Arbeit sollte eine Reihe von Problemen der „Phytochorie" (GÄUMANN 1951) der Viren einer Lösung nähergebracht werden. Es wurden erstmalig Vertreter der Untergattung *Cuscuta* zu Virusübertragungen benutzt, nämlich *Cuscuta epilinum* Weihe, *C. epithymum* Murr. und *C. europaea* L. Von der Untergattung *Monogyna* stand *Cuscuta lupuliformis* Krock. zur Verfügung, außerdem noch fünf der oben genannten *Grammica*-Arten. An Hand von zwölf verschiedenen Virusarten kamen Experimente zur Durchführung, wobei mehr als 8000 Pflanzen allein in Übertragungsversuchen parasitiert wurden. Als es sich herausgestellt hatte, daß ein jahreszeitlicher Einfluß auf den Infektionserfolg bestehen kann, wurde besonderer Wert der Durchführung der Versuche mit dem gleichen Virus in verschiedenen Zeiträumen beigemessen. Von jedem Virus wurden möglichst mehrere Stämme bzw. Isolierungen verwendet.

A. Material und Methoden

a) Die Seidearten

In der Tabelle 1 sind die zu den Versuchen verwendeten Seidearten nach ihrer systematischen Zugehörigkeit geordnet unter Angabe ihrer Herkunft aufgeführt. Zu erwähnen ist, daß alle Seideproben, nicht nur die vom Verfasser selbst gesammelten, einer eingehenden Artbestimmung nach dem Werk von YUNCKER (1932) unterzogen wurden.

Von *Cuscuta campestris* YUNCK. (= *C. arvensis calycina* ENGELM.) lag außer dem eigenen Material zu Vergleichszwecken noch solches vor, das aus Samen gezogen worden war, welche Prof. Dr. BENNETT-Riverside zur Verfügung gestellt hatte. Unterschiede in morphologischer oder biologischer Hinsicht waren zwischen den beiden Herkünften nicht erkennbar. *Cuscuta gronovii* konnte auf Grund der Tatsache, daß die Blütenkrone nach der Ausbildung der Kapsel meist haubenartig deren Spitze bedeckte, als Varietät *calyptrata* ENGELM. bestimmt werden.

Aus den Samen von *Cuscuta subinclusa* wurden neun Einzelpflanzen aufgezogen und in Kultur gehalten. Zwei von diesen konnten ständig leicht voneinander unterschieden werden. Sie wurden zu den Virusübertragungsversuchen ausgewählt. Die eine Form wies wie die meisten übrigen Pflanzen eine Rotfärbung der Spitzen ihrer rudimentären und ziemlich kurz bleibenden Blätter auf. Im Gegensatz dazu besaßen die Blattrudimente der anderen Form keine Farbe, sie waren etwas länger und spreizten sich an den Triebspitzen ein wenig auseinander (Abb. 1). Auch einige weitere Merkmale unterschieden die „rotblättrige" und die „weißblättrige" Form von *Cuscuta subinclusa*. Die erstere blühte sehr selten, während die letztere ziemlich viele, allerdings samenlose Blüten ausbildete. Aus der Literatur war nicht zu entnehmen, inwieweit bei *Cuscuta subinclusa* Varietäten oder Formen bekannt sind. Auch YUNCKER (1932),

Tabelle 1 Systematische Stellung (nach YUNCKER 1932) und Herkunft der *Cuscuta*-Arten

Subgenus	Section	Subsection	Species	Herkunft
Grammica	*Cleistogrammica*	*Arvenses*	*campestris* YUNCK.	Versuchsfeld des Institutes für Phytopathologie Aschersleben
Grammica	*Cleistogrammica*	*Californicae*	*californica* CHOISY	Prof. Dr. BENNETT, Riverside, Kalifornien
Grammica	*Cleistogrammica*	*Subinclusae*	*subinclusa* DUR. et HILG.	Prof. Dr. BENNETT, Riverside, Kalifornien
Grammica	*Cleistogrammica*	*Oxycarpae*	*gronovii* WILLD.	Botanischer Garten, Berlin-Dahlem
Grammica	*Eugrammica*	*Americanae*	*americana* L.	Prof. Dr. BENNETT, Riverside, Kalifornien
Cuscuta	*Eucuscuta*	*Europaeae*	*europaea* L.	Verschiedene Standorte um Aschersleben
Cuscuta	*Eucuscuta*	*Europaeae*	*epilinum* WEIHE	Botanischer Garten, Berlin-Dahlem
Cuscuta	*Eucuscuta*	*Planiflorae*	*epithymum* MURR.	Luzernefeld bei Reinstedt, Kreis Aschersleben, seltener von Standorten in Thüringen
Monogyna	*Monogynella*	—	*lupuliformis* KROCK.	Botanischer Garten, Berlin-Dahlem

der in seiner systematischen Bearbeitung bei vielen anderen *Cucuta*-Arten Untergruppierungen angibt, nimmt bei dieser Art keine Unterteilung vor. Von den weiteren Seidearten konnten keine differenten Formen mit Sicherheit festgestellt werden.

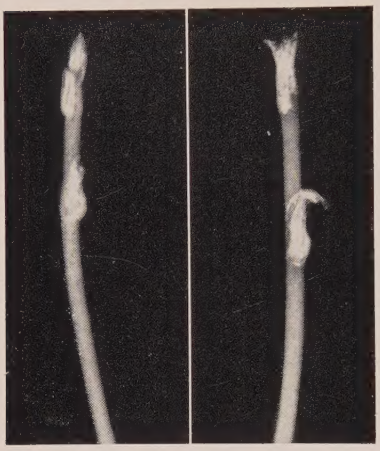


Abb. 1. Triebspitzen von *Cuscuta subinclusa*. Links: rotblättrige, rechts: weißblättrige Form

Alle neun Seidearten waren auf *Nicotiana*-Arten und *Vicia faba* L. im Gewächshaus anzuziehen. Auf Grund ihrer sehr unterschiedlichen Neigung zur Bildung von Blüten und Verzweigungen konnten sie nicht alle ständig in Kultur gehalten werden. *Cuscuta americana, C. gronovii, C. europaea, C. epilinum* und vor allem *C. lupuliformis* ließen häufig nur wenige Triebe entstehen, um sodann fast ausschließlich Blüten und Samen anzusetzen. Dadurch erwies sich das Experimentieren mit ihnen als recht schwierig, es waren meist nur wenige Versuche durchzuführen, und es mußten immer wieder neue Exemplare aus Samen herangezogen werden. *Cuscuta campestris* konnte lange Zeit durch vegetative Vermehrung in Kultur gehalten werden, obgleich sie nach einer gewissen Entwicklungszeit ständig blühte und fruchtete. In Abständen wurden jedoch frische Kulturen aus Keimlingsmaterial angelegt. Die Arten *Cuscuta epithymum* und *C. californica* blühten im Gewächshaus überhaupt nicht bzw. sehr selten. Sie beide und ebenso die beiden Formen von *Cuscuta subinclusa* wurden ständig durch Übersetzen von Sprossen auf neue Wirtspflanzen als Klone erhalten.

Die Seidearten parasitierten ihre Wirtspflanzen im allgemeinen in der Weise, daß sie dieselben umschlangen und sodann Haustorien in sie hineintrieben. Lediglich *Cuscuta epithymum* wich von dieser Regel ab, ihre Triebspitzen richteten sich ohne vorherige Umwindung gegen Wirtspflanzenteile und bildeten die Saugorgane aus. Sowohl Stengel als auch Blätter wurden in dieser Weise parasitiert (Abb. 2). Sie kam dabei meist verhältnismäßig spät zu einem Anschluß an den Wirt. Nur wenn sehr dünnstengelige Pflanzen geboten wurden, führte *Cuscuta epithymum* typische Umschlingungen durch.

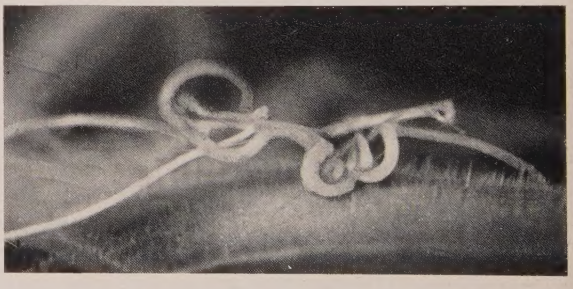


Abb. 2. *Cuscuta epithymum* auf der Blattspreite von Tabak angewachsen

b) Die Viren

Das Gurkenmosaik-Virus

Vom Gurkenmosaik-Virus (*Marmor cucumeris* HOLMES, *Cucumis* virus 1 [DOOLITTLE] SMITH) lagen mehrere Stämme vor, die zu *Cuscuta*-Übertragungen benutzt wurden. Ein „gewöhnlicher Grünstamm" (GM I) wurde für die Untersuchungen im August 1953 von einer Freilandgurke in Aschersleben isoliert. Die durch diesen Stamm hervorgerufenen Symptome entsprechen dem üblichen Bild. Charakteristisch ist ihr bald nach der Infektion einsetzendes Verschwinden von den akut erkrankten Blättern und die Symptomlosigkeit des späteren Zuwachses bei *Nicotiana tabacum* (Sorte Samsun). Bei *Nicotiana glutinosa* setzt keine Erholung (recovery) ein. Ein „starker Grünstamm" (GM III) wurde

1952 aus einer Mischinfektion mit Kartoffel-Y-Virus von Tabak in Biendorf-Wohlsdorf, Kr. Köthen, isoliert (KLINKOWSKI und SCHMELZER, 1956). Seine Abtrennung erfolgte mittels *Cuscuta campestris*. An Samsuntabak sind die Mosaiksymptome stärker und die Deformationen ausgeprägter als durch GM I. Völliges Verschwinden der Virussymptome tritt hier nicht ein. Bei *Nicotiana glutinosa* ruft GM III neben Mosaiksymptomen meist charakteristische, aber nicht besonders starke Blattverschmälerungen hervor. Blattverbiegungen treten weniger als bei GM I auf, dagegen sind nekrotische Erscheinungen häufiger. Von Dr. D. NOORDAM-Wageningen wurde ein Gelbstamm des Gurkenmosaik-Virus bezogen. Es ist derselbe Stamm, der von ihm in einer früheren Arbeit benutzt wurde (NOORDAM 1952 b) und der nach K. M. SMITH-Cambridge mit dem Gelbstamm Nr. 6 von PRICE (= var. *judicis* HOLMES) identisch ist.

Das Luzernemosaik-Virus

Auf einem Luzernebeet in Aschersleben fiel im Jahre 1953 eine Pflanze mit starkem Gelbmosaik auf, von der Luzernemosaik-Virus (*Marmor medicaginis* HOLMES, *Medicago* virus 1 und 2) isoliert werden konnte. Auf Tabak erzeugt es meist ein deutliches Gelbmosaik, später kommt es zu einer Erholung der Pflanzen. Weitere drei Isolierungen des Luzernemosaik-Virus gewann ich von gelbfleckigen *Solanum nigrum* L. Sie unterscheiden sich im Schädigungsgrad auf *Nicotiana glutinosa*, auf der sie vor allem nekrotische Blattflecke mäßiger Größe verursachen. Die Mosaikscheckung ist bei ihnen weniger ausgeprägt. Material ähnlicher Art hat HEIN (1956) symptomatologisch näher untersucht.

Das Tabakmauche-Virus

Auch vom Tabakmauche-Virus (*Nicotiana* virus 5 [BÖNING] SMITH) wurden mehrere Isolate zu Übertragungsversuchen benutzt. Von Dr. J. P. H. VAN DER WANT-Wageningen erhielt ich eine aus Holland stammende Isolierung von Tabak. Dr. O. BODE-Braunschweig stellte drei weitere zur Verfügung, die von Tabak, Kartoffel und Ackergänsedistel (*Sonchus arvensis* L.) isoliert worden waren. In vergleichenden Abreibungen unterschieden sich vor allem die holländische Isolierung und der „Distel-Stamm". Während die erstere im akuten Stadium der Erkrankung auf Folgeblättern von Samsuntabak meist ziemlich unregelmäßig verstreute nekrotische Flecke verursacht und sich besonders deutlich in Form von Stengel-

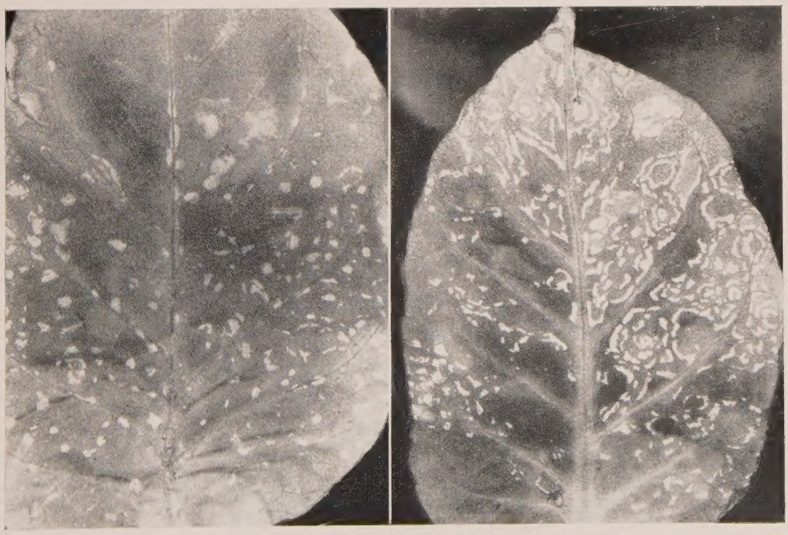


Abb. 3. Blätter von *Nicotiana tabacum* (Sorte Samsun) mit Symptomen des Tabakmauche-Virus. Links: holländisches Isolat, rechts: Isolat von *Sonchus arvensis*

nekrosen manifestiert, bewirkt der letztere ausgeprägte Bogen- und Ringmuster und befällt den Stengel weniger stark (Abb. 3). Die von den beiden anderen Isolierungen erzeugten Krankheitsbilder nehmen eine Mittelstellung zwischen diesen Symptomtypen ein.

Das Bronzeflecken-Virus

Dr. NOORDAM überließ mir eine Pflanze von *Campanula isophylla* MORETTI, infiziert mit dem Bronzeflecken-Virus (*Lethum australiense* HOLMES, *Lycopersicum* virus 3 [BRITTLEBANK] SMITH). Es handelt sich um ähnliches Material, wie er in seiner Arbeit (1952 a) beschrieben hat. Pflanzen von *Nicotiana glutinosa* überlebten systemischen Befall mit der Virusherkunft in unseren Versuchen im allgemeinen nicht.

Das Rübenvergilbungs-Virus

Material des Vergilbungs-Virus (*Corium betae* HOLMES, *Beta* virus 4 [ROLAND et QUANJER] SMITH) wurde von Dipl.-Biol. H. SCHMIDT-Aschersleben zur Verfügung gestellt. Außer den spät und im Gewächshaus nicht immer deutlich auftretenden Vergilbungssymptomen an älteren Blättern verursacht das Virus bei Läuseübertragung ungefähr zehn Tage nach der Infektion Adernaufhellung an jungen Blättern, die längere oder kürzere Zeit später wieder verschwindet.

Das Grünscheckungsmosaik-Virus

Dr. H. A. USCHDRAWEIT-Berlin-Dahlem wies das Vorkommen des Grünscheckungsmosaik-Virus der Gurke (*Marmor astrictum* HOLMES, *Cucumis* virus 2 [BEWLEY] SMITH) in Deutschland nach (1955 a). Er überließ mir Material dieses Virus, das in den eigenen Versuchen ausgesprochene Grünsymptome hervorrief und daher dem „type strain" entsprechen dürfte.

Das Gelbe Bohnenmosaik-Virus

Auf der Gladiole tritt ein Leguminosen-Virus auf, das in dieser Pflanze weltweit verbreitet ist und gewöhnlich als Gelbes Bohnenmosaik-Virus (*Phaseolus* virus 2 [PIERCE] SMITH) bezeichnet wird. Prof. Dr. M. KLINKOWSKI-Aschersleben stellte mir einen der in Versuchen zur Identifizierung der Gladiolenviren isolierten Stämme des Gelben Bohnenmosaik-Virus zur Verfügung. Der thermale Inaktivierungspunkt dieses Stammes „I/7/5" liegt zwischen 62 und 64 ° C, der Verdünnungsendpunkt zwischen 1 : 5000 und 1 : 10 000 (KLINKOWSKI 1956).

Mosaikvirus von der Ackerbohne

Ein Mosaikvirus isolierte ich im August 1953 für die Versuche mit *Cuscuta* von einer Ackerbohne auf einer Parzelle des hiesigen Institutes. Über seine systematische Einordnung ist nichts bekannt, jedoch dürfte es nicht zum „echten Ackerbohnenmosaik-Virus" (*Viciavirus varians* QUANTZ) im Sinne von QUANTZ (1953) gehören. Sein thermaler Inaktivierungspunkt liegt zwischen 60 und 62 ° C.

Das Kartoffelbukett-Virus

Die zwei verwendeten Stämme des Bukett-Virus (*Solanumvirus deformans* KÖHLER) stammen aus Niedersachsen und wurden von Dr. BODE bezogen. Sie zeigten bei Abreibungen die von KÖHLER (1952) beschriebenen Symptome. Im allgemeinen schädigt der „Condor"-Stamm den Samsuntabak etwas stärker als der Stamm von „Heida".

Das Kartoffel-Y-Virus

Auch vom Y-Virus (*Marmor upsilon* HOLMES, *Solanum* virus 2 [ORTON] SMITH) wurden mehrere Isolierungen bzw. Stämme benutzt. Im August 1953 wurden von einem Kartoffelfeld in der Umgebung von Aschersleben drei Isolierungen von typisch sekundär strichelkranken Kartoffeln der Sorten Ackersegen und Aquila gewonnen. Von Tabak in Biendorf-Wohlsdorf konnten zwei Stämme isoliert werden. Der eine war in Mischinfektion mit dem starken Gurkenmosaik-Virus (GM III) aufgetreten und unterschied sich auf Samsuntabak und *Nicotiana glutinosa* von zwei der vorgenannten Isolierungen kaum. Der andere war im September 1953 von einer an „Rippenbräune" erkrankten Tabakpflanze

isoliert worden. Auf verschiedenen Sorten von *Nicotiana tabacum*, unter anderem auch auf Samsun, verursacht er schwere Krankheitserscheinungen (KLINKOWSKI und SCHMELZER, 1956). Wahrscheinlich steht er dem von NOBREGA und SILBERSCHMIDT (1944) beschriebenen, sowie dem von KÖHLER (1955) in Nordwestdeutschland gefundenen Stamm „Al" sehr nahe. Da alle diese Stämme trotz ihrer zum Teil großen symptomatologischen Unterschiede sich in den Versuchen mit Seide gleichartig verhielten, wurden die mit ihnen erzielten Ergebnisse zusammengefaßt dargestellt.

Das Kartoffel-X-Virus

Seit Jahren wird ein Isolat des X-Virus (*Annulus dubius* HOLMES, *Solanum* virus 1 [ORTON] SMITH) im hiesigen Institut auf Tabak gehalten, das Ringfleckensymptome auf Samsun bewirkt, die im allgemeinen recht deutlich, im Sommer jedoch zeitweilig abgeschwächt sind. Bei niedriger Temperatur werden zählbare Primärläsionen in Form von Ringen oder Punkten gebildet. Dieser Stamm des X-Virus wird in der vorliegenden Arbeit als „Xr" bezeichnet. Eine weitere X-Virusherkunft ruft auf Samsun keine Symptome oder nur eine sehr schwache, vorübergehende Scheckung hervor. Auf *Nicotiana glutinosa* verursacht diese Virusisolierung ein schwaches, bleibendes Mosaik, das zur Beurteilung des Befalles an dieser Pflanze ausreicht.

Das Tabakätzmosaik-Virus

Einen starken Stamm des Tabakätzmosaik-Virus (*Marmor erodens* var. *severum* HOLMES, *Nicotiana* virus 7 [E. M. JOHNSON] SMITH) verdanke ich Dr. F. C. BAWDEN-Rothamstedt.

Das Tabakmosaik-Virus

Vom Tabakmosaik-Virus (*Marmor tabaci* HOLMES, *Nicotiana* virus 1 [MAYER] SMITH) standen verschiedene Stämme zur Verfügung. Eine Isolierung wurde im September 1953 in Biendorf-Wohlsdorf gewonnen. Ihre Symptome entsprechen denen des gewöhnlichen Grünstammes, sie erzeugt Helldunkelgrün-Scheckung auf Samsun und *Nicotiana sylvestris* SPEG. et COMES. Je nach Jahreszeit und Umweltverhältnissen führt sie zu Blattdeformationen. Im hiesigen Institut wird seit Jahren ein Gelbstamm kultiviert, der von Dr. USCHDRAWEIT bezogen wurde. Als typischer Aucuba-Stamm erzeugt er nur nekrotischen Lokalbefall auf *Nicotiana sylvestris*. Die Wuchsdepressionen an Samsun sind durch diesen Stamm stärker als durch den Grünstamm. Sehr ähnlich dem vorgenannten ist ein Aucuba-Stamm von Dr. BAWDEN, der in einigen Versuchen Verwendung fand.

c) Methodik und Testpflanzen

Die Versuche wurden in den Gewächshäusern der Biologischen Zentralanstalt der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin, Institut für Phytopathologie Aschersleben während des Sommers 1952, sowie vom Herbst 1953 bis Herbst 1955 durchgeführt. Gegen Zuflug von Blattläusen kam ein Hexa-Räuchermittel wöchentlich ein- bis zweimal, je nach Jahreszeit, zur Anwendung.

Die Anzucht der autotrophen Pflanzen erfolgte in der üblichen Weise. Einige Zeit vor Beginn der Versuche wurden sie in 8-cm-Töpfe gepflanzt. Durch einprozentige Formalinlösung wurden Erde, Töpfe und Stecketiketten desinfiziert. Die bei Beimpfungen benutzten Geräte wurden einer mindestens halbstündigen Erhitzung auf 180 ° C unterworfen. Die Desinfektion der Hände erfolgte mit einer zu Creme verkochten Mischung von fünf Teilen Trinatriumphosphat, 20 Teilen Toilettenseife und 100 Teilen Wasser.

Es war aus verschiedenen Gründen nicht möglich, die Übertragungsversuche an einem Virus mit allen Seidearten gleichzeitig anzusetzen. Daher sind in vielen Fällen die Übertragungserfolge der einzelnen *Cuscuta*-Arten nur bedingt miteinander vergleichbar. Die zu Übertragungs- und Nachweisversuchen verwendeten *Cuscuta*-Triebe wurden, soweit keine besonderen Angaben gemacht werden, wie folgt erzeugt: Viruskranke Pflanzen wurden mit Seidesprossen umwickelt, die je nach art- oder umweltbedingter Wachstumsfreudigkeit frühestens nach neun, gewöhnlich aber erst nach 14 Tagen Sprosse ergaben, welche vorwiegend aus Nährstoffen von viruskranken Wirtspflanzen aufgebaut waren. Diese und späterhin auf den gleichen Wirten entstandene Triebe wurden zu Übertragungsversuchen

verwendet. Im allgemeinen wurden Sprosse von 10 bis 20 cm Länge abgetrennt und einzeln um Stengel oder Blattstiele junger, zu infizierender Pflanzen gewickelt. Nur bei *Cuscuta epithymum* kam ein ganzes Bündel auf jede Pflanze, weil bei dieser Art den meisten Triebspitzen auf Grund ihrer geringen Größe und ihrer besonderen Parasitierungsweise der Anschluß an einen Wirt nicht gelingt.

Kontrollparasitierungen mit virusfreier Seide erfolgten in jedem Versuch. Virusähnliche Symptome, hervorgerufen an den Pflanzen durch bloßes Wachstum der Seide oder durch Fäulnisstellen, konnten dadurch leichter diagnostiziert werden. Gleichzeitig wurde kontrolliert, ob etwaige Virusinfektionen tatsächlich durch in den Wirt eingedrungene Haustorien oder durch bloßes Umwickeln der Pflanzen mit Seide erfolgten. Dazu wurden nach dem Beispiel von COSTA (1944) zuerst alle Pflanzen mit *Cuscuta* von virushaltigen Wirten umschlungen, nach einigen Minuten wurde bei den Kontrollpflanzen die „Virusseide" entfernt und durch Seide von gesunden Wirten ersetzt.

Vom Tage der Parasitierung an gerechnet blieben die Pflanzen 40 Tage unter Beobachtung, zuweilen auch länger. In vielen Versuchen mit dem Gurkenmosaik-Virus und mit Wirten, bei denen ausschließlich lokale Reaktionen zu erwarten waren, dauerte die Beobachtungszeit nur 30 Tage. Bis zum Versuchsende wurde die Seide von den Versuchspflanzen nicht entfernt. Vor allem bei höheren Gewächshaustemperaturen wuchs die Seide oft sehr üppig, so daß beständiges Abbrechen der neugebildeten Triebe im Abstand von wenigen Tagen nötig war, um ein spontanes Überwachsen auf andere Pflanzen und die Erschöpfung der Wirte zu verhindern.

Abgesehen von wenigen Versuchen mit dem X- und dem Y-Virus, den meisten mit dem Gurkenmosaik-Virus und allen Versuchen mit dem Virus der Rübenvergilbung, wurde das Ergebnis sämtlicher Virusübertragungsexperimente mit Seide durch Abreibung der zu infizierenden Wirtspflanzen und der Kontrollen auf geeignete Testpflanzen gesichert. Zu diesem Zweck wurden Blattstücke aus der Spitzenregion ausgepreßt. Wenn es sich um Übertragungsversuche mit Viren handelte, bei denen auf Grund vorheriger negativer Ergebnisse und nach dem Augenschein keine Infektion der Wirtspflanzen zu erwarten war, wurden die Blattstücke von fünf Pflanzen gemeinsam in einem Mörser verarbeitet und auf je zwei junge mit Karborund bestäubte Testpflanzen mittels Glasspatel abgerieben. In jeder Serie dieser Rückteste erfolgte auch die Beimpfung zweier Pflanzen mit Preßsaft aus virusinfizierten Blättern. Dadurch sollte kontrolliert werden, ob unter den jeweiligen Umständen das Virus wirklich nachzuweisen war. Beim Luzernemosaik- und Tabakmosaik-Virus wurde jede seideparasitierte Pflanze einzeln getestet. Für das erstgenannte Virus standen mehr Testpflanzen als parasitierte Pflanzen im Versuch, da stets auf eine *Nicotiana glutinosa* und meist zusätzlich auf eine *Phaseolus vulgaris* abgerieben wurde. Fiel der Test auf Tabakmosaik-Virus mit *Nicotiana glutinosa* positiv aus, so wurde in einem zweiten Test festgestellt, ob das Virus systemische Infektion oder nekrotische Lokalläsionen auf *Nicotiana sylvestris* hervorrief. In jedem Übertragungsversuch kamen möglichst beide Typen des Virus zur Verwendung. Spontanerkrankungen konnten auf diese Art mit größerer Wahrscheinlichkeit erkannt werden, da nur eine Infektion mit dem erwarteten Typ als „echte" Übertragung gewertet wurde. Abweichungen im Virustyp traten übrigens fast nie auf. Für die Viren der Tabakmauche, des Kartoffelbukett, des Tabakätzmosaik sowie für den Xr-Stamm des Kartoffel-X-Virus war Samsuntabak die Testpflanze, für das Gurkenmosaik- und das Y-Virus sowie Xm wurde *Nicotiana glutinosa* verwendet. Zuweilen erfolgte die Prüfung auf X-Virus serologisch nach der Blättchenmethode von STAPP (1950). Die Testung des Mosaikvirus von der Ackerbohne und des Gelben Bohnenmosaik-Virus geschah auf *Vicia faba*. Bei Abreibungen auf Samsun wurden zwei, bei *Nicotiana glutinosa* drei Blätter je Pflanze beimpft. Bei den anderen Pflanzen erfolgte die Beimpfung auf alle verfügbaren Blätter.

Zum Virusnachweis in Seide wurde Preßsaft meist unverdünnt auf vorher mit Karborund bestäubte junge Testpflanzen mit Hilfe eines Glasspatels abgerieben. Bei Verdünnungen kam $^1/_{15}$ mol neutraler Phosphatpuffer als Verdünnungsmittel zur Verwendung. Soweit nicht anders angegeben, wurden zum Virusnachweis keine im unmittelbaren Kontakt mit der Wirtspflanze gewachsenen Haustorialwindungen genommen. Wenn es galt, die hochinfektiösen Viren des Tabakmosaiks, des Grünscheckungsmosaiks der Gurke

sowie das Kartoffel-X-Virus nachzuweisen, wurde die Seide vorher unter fließendem Wasser abgewaschen und mit sterilem Filtrierpapier abgetrocknet.

Zum Virusnachweis in Seide oder zur Prüfung des Infektionserfolges von Seideübertragungen abgeriebene Pflanzen blieben 30 Tage unter Beobachtung, falls nicht die Bildung von Lokalläsionen die einzige zu erwartende Reaktion war. Methodische Angaben zu speziellen Versuchen finden sich in den betreffenden Abschnitten.

B. Experimentelle Untersuchungen

1. Gurkenmosaik-Virus

a) Übertragungen auf systemisch erkrankende Wirte

Von Übertragungen des Gurkenmosaik-Virus mit Hilfe von *Cuscuta* berichteten bereits mehrere Autoren. Bennett (1940 a, 1944) und Hildebrand (1945) benutzten *Cuscuta californica, C. campestris* und *C. subinclusa*. Während der erste alle drei Arten gleich gut zur Übertragung geeignet fand, gab der letzte an, daß *Cuscuta californica* im Gegensatz zu den beiden anderen Arten das Virus weniger oft übertrug. Costa (1944) experimentierte mit *Cuscuta campestris* und erreichte ebenfalls hohe Infektionsprozentsätze. Sakimura (1947) hatte mittels *Cuscuta sandwichiana* nur dann Übertragungserfolge, wenn er eine direkte Verbindung zwischen kranken und gesunden Wirten durch den Schmarotzer herstellen ließ, abgetrennte Sprosse des Parasiten übertrugen das Virus nicht.

Die eigenen Versuche zur Übertragung des Gurkenmosaik-Virus wurden mit folgenden *Cuscuta*-Arten angestellt: *americana, californica, campestris, epithymum* (Ascherslebener Herkunft), *europaea, gronovii, lupuliformis* und *subinclusa*. Die Viruswirte der Seide waren jeweils *Nicotiana glutinosa* oder Samsuntabak, die zu infizierende Pflanze war in jedem Fall *Nicotiana glutinosa*. Aus Tabelle 2 sind die erzielten Ergebnisse zu entnehmen. Die Auswertung kann nach zwei Gesichtspunkten erfolgen. Erstens nach der Eignung der Seidearten als Überträger des Stammes GM I des Gurkenmosaik-

Tabelle 2

Seide-Übertragungsversuche mit dem Gurkenmosaik-Virus auf *Nicotiana glutinosa* L.

Cuscuta-Art	gewöhnlicher Grünstamm		starker Grünstamm		Gelbstamm	
campestris	48/49 a)	(11) b)	6/6	(2)		
subinclusa, rotblättrig	75/77	(24)			48/57	(15)
subinclusa, weißblättrig	28/29	(12)			6/7	(5)
californica	52/55	(20)	4/6	(1)	18/54	(22)
gronovii	7/7	(5)			4/4	(2)
americana	4/4	(1)				
epithymum	67/76	(28)	1/7	(3)	0/2	—
europaea	46/47	(23)			2/13	(3)
lupuliformis c)	6/40	(8)	0/5	(1)	0/21	—

a) Der Zähler gibt die Anzahl der infizierten, der Nenner die Anzahl der parasitierten Pflanzen an.

b) Die Anzahl der Kontrollen, parasitiert mit virusfreier Seide, ist in Klammern gesetzt. Alle Kontrollen blieben virusfrei.

c) Bei *Cuscuta lupuliformis* wurde ein Teil der Parasitierungen mit Trieben gemacht, die ursprünglich auf kranken Pflanzen gewachsen waren, in der Zwischenzeit jedoch vorwiegend aus gesunden Pflanzen ihre Nahrung bezogen.

Virus und zweitens nach der Übertragbarkeit verschiedener GMV-Stämme durch *Cuscuta*.

Die geprüften Arten des Subgenus *Grammica* übertrugen den Stamm GM I nahezu hundertprozentig. Aus dem Subgenus *Cuscuta* war *C. europaea* ebenfalls zur Übertragung dieses Stammes fast in jedem Fall befähigt. Bei *Cuscuta epithymum*, die der gleichen systematischen Untereinheit angehört, entgingen eine Reihe von Pflanzen der Infektion.

Der Grund dafür ist wahrscheinlich in der eigenartigen Parasitierungsweise dieser feinstengeligen Seide zu suchen, die dazu führt, daß nicht immer ein schneller und wirkungsvoller Anschluß an den Wirt erreicht wird. Daß sie jedoch ein guter Überträger des GM I ist, beweist die Tatsache, daß sämtliche mit virushaltiger Seide parasitierten 14 Spinat- und 15 Tomatenpflanzen erkrankten, während die Kontrollen (jeweils fünf) gesund blieben. Ganz aus dem Rahmen fällt *Cuscuta lupuliformis*, die nur selten zur Übertragung befähigt war. Allerdings mußte bei ihr wegen der geringen Tendenz zur Bildung neuer Triebe von der sonst üblichen Übertragungsweise abgewichen werden. Die Seide wuchs meist vom Keimlingsstadium ab auf kranken Wirten und wurde dann auf Versuchspflanzen übergeleitet. Ohne Rücksicht auf den Übertragungserfolg wurden Triebe dieser Pflanzen zu weiteren Parasitierungen benutzt. Aber auch Sprosse der *Cuscuta californica, C. epithymum* und *C. subinclusa* von noch symptomlosen Testpflanzen waren zum Vergleich bei einigen Übertragungen des Virus angesetzt worden. Es wurden die gleichen Erfolge wie nach der gebräuchlichen Methode erzielt. Daher ist *Cuscuta lupuliformis* tatsächlich als weniger erfolgreicher Vektor des Virus im Vergleich zu den anderen Seidearten anzusehen.

Cuscuta epithymum übertrug den starken Grünstamm schlecht. Dieser Stamm schädigt, wie weiter unten noch geschildert wird, die Seide sehr viel stärker als GM I, so daß eine Erklärung in der erhöhten Vitalitätsschwächung des Schmarotzers gesucht werden kann. Der Gelbstamm des GMV veränderte die parasitischen Eigenschaften der *Cuscuta* kaum anders als GM I, und dennoch übertrugen vor allem *C. californica* und *C. europaea* in vergleichenden Versuchen den Gelbstamm schlechter als den Grünstamm.

Die kürzeste Zeitspanne zwischen dem Ansetzen der Seide und dem Sichtbarwerden der Viruserkrankung an *Nicotiana glutinosa* war im allgemeinen etwas länger als die von BENNETT (1944) für *N. tabacum* angegebene. In Übereinstimmung mit COSTA (1944) wurden frühestens nach neun Tagen die ersten Symptome bobachtet, nur in einem Fall bereits nach acht Tagen. Bis zum 20. Tage war der überwiegende Teil der Pflanzen erkrankt. Die Merkmale der GMV-Stämme wurden durch Seideübertragung nicht verändert.

Wirklich gesicherte Fälle einer erfolgreichen Parasitierung von Gramineen mit Seide sind wohl noch nicht festgestellt worden (GAERTNER 1950), obgleich HEGI (1926) für *Cuscuta epithymum* Gramineen-Wirte angibt. Es ist daher nicht verwunderlich, daß ein Versuch zur GMV-Übertragung mit *Cuscuta epithymum* auf den für dieses Virus anfälligen Mais (WELLMAN 1934) fehlschlug, der mit zehn Versuchspflanzen und vier Kontrollen durchgeführt wurde.

b) Übertragungen auf lokal erkrankende Wirte

Costa (1944) hatte an *Vicia faba* L. und *Vigna sinensis* (L.) Endl. die Bildung von Nekrosen an Eindringungsstellen der Haustorien GMV-haltiger *Cuscuta campestris* beobachtet. In eigenen Versuchen konnten derartige, als Lokalläsionen zu bewertende Erscheinungen an *Vicia faba* durch eine ganze Reihe von GMV-übertragenden Seidearten hervorgerufen werden. In Tabelle 3 sind die Versuche mit dem gewöhnlichen Grünstamm GM I zusammengefaßt. In weiteren, hier nicht dargestellten Experimenten wurden auch GM III und der Gelbstamm auf die Ackerbohne mit *Cuscuta* übertragen. Diese Stämme bewirkten ebenfalls nekrotische Lokalläsionen.

Tabelle 3

Seide-Übertragungsversuche mit dem gewöhnlichen Grünstamm des Gurkenmosaik-Virus auf *Vicia faba* und *Chenopodium*-Arten

Cuscuta-Art	*Vicia faba*		*Chenopodium*			
			quinoa		*album*	
campestris	64/70[a]	(40)[b]	3/3	(2)	3/3	(3)
subinclusa, rotblättrig	43/48	(15)	14/20	(10)		
subinclusa, weißblättrig	32/32	(12)	33/35	(18)	21/34	(18)
californica	16/18	(4)				
gronovii	2/2	(1)				
epithymum	24/51	(24)			4/4	(2)
europaea	12/17	(5)				
lupuliformis[c]	0/20	(5)				

[a] [b] [c] siehe Tabelle 2.

Cuscuta lupuliformis übertrug das Virus (GM I) nicht auf *Vicia faba*. Es muß aber auch hier darauf aufmerksam gemacht werden, daß diese Seideart meist nicht unmittelbar vor der Parasitierung der Ackerbohnen auf einem viruskranken Wirt gewachsen war. Obwohl auch andere Seidearten nicht die bei Übertragungen des Virus auf *Nicotiana glutinosa* erreichten Prozentsätze aufweisen, fällt wiederum *Cuscuta epithymum* als weniger erfolgreicher Überträger auf. Die Ergebnisse der Versuche sind in Tabelle 4 nach Monaten geordnet dargestellt.

Soweit das geringe Zahlenmaterial Schlüsse zuläßt, zeigt sich eine Abhängigkeit des Infektionserfolges von der Jahreszeit. Auf gleichartige Effekte wird bei anderen Viren noch mehrmals hinzuweisen sein.

Tabelle 4

Übertragbarkeit des Gurkenmosaik-Virus auf *Vicia faba* mit *Cuscuta epithymum* während verschiedener Monate

Monat	Anzahl der Pflanzen	
Dezember	4/5[a]	(5)[b]
Januar	5/10	(6)
Februar	4/8	(3)
März	7/14	(6)
April	2/6	(2)
Mai	2/8	(2)

[a] [b] siehe Tabelle 2.

Nach COSTA (1944) treten Lokalläsionen durch Seidebefall bereits vier Tage nach dem Ansetzen von GMV-übertragender *Cuscuta campestris* an Ackerbohnen auf. In den eigenen Versuchen wurde ebenfalls gelegentlich ein derartig schnelles Erscheinen der Symptome beobachtet. Im allgemeinen waren jedoch fünf Tage die kürzeste Zeitspanne. Bis zum zehnten Tag hatten die meisten Pflanzen Nekrosen gebildet.

Die Entwicklung der Lokalläsionen konnte sehr unterschiedlich erfolgen. Meist kam es zuerst zur Bildung bräunlicher bis schwärzlicher Streifen, bevorzugt an den Kanten des Ackerbohnenstengels. Gelegentlich waren graue diffuse Schleier in einiger Entfernung von den Haustorien, jedoch deutlich durch sie ausgelöst, das erste Symptom. Später konnten ausgesprochen starke Bräunungen oder Schwärzungen entstehen, wobei sich Nekrosestreifen vor allem akropetal ausdehnten und Längen von mehr als 10 cm erreichten. Im Gegensatz zu den durch Abreibungen an Blättern hervorgerufenen, vergrößern sich die durch Seide an Stengeln erzeugten Läsionen längere Zeit. Wenn sich die Seide oberhalb der ersten Parasitierungsstelle erneut festsetzte, konnten auch dort Nekrosen gebildet werden. Im Zusammenhang mit den Verfärbungen kam es zu starken Einsenkungen der Stengelgewebe und gelegentlichem nachfolgenden Umknicken. Im Gegensatz dazu verdickte sich der von virusfreier Seide parasitierte Stengel an der Befallsstelle mehr oder weniger deutlich.

Die Bildung von Nekrosen an Eindringungsstellen von Seidehaustorien ist nicht immer ein Kriterium für eine Virusinfektion. Stirbt eine Haustorialwindung des Schmarotzers an einer Ackerbohnenpflanze ab, so kommt es häufig zur Nekrotisierung des benachbarten Wirtsgewebes. Diese ist nicht immer mit Sicherheit von Virusläsionen zu unterscheiden.

Besonders interessant erschien der Umstand, daß die Nekrosereaktion bei verschiedenen Formen der *Vicia faba* ungleich erfolgte. In den ersten Seideübertragungen des GMV fand die Sorte „Rastatter" von *Vicia faba* var. *minor* Verwendung. Später waren Samen von ihr nicht mehr greifbar und deshalb wurden die Untersuchungen mit *Vicia faba* var. *major* Sorte „Dreifachweiße" fortgesetzt. Bei gleichen Übertragungserfolgen stellte sich doch ein Unterschied heraus. Die Nekrosen auf *Vicia faba* var. *minor* hatten sich stärker ausgebreitet. Spätere Versuche wiederum auf einer *minor*-Sorte bestätigten dies. Daher wurden in zwei Experimenten gleichaltrige Pflanzen der *major*-Sorte „Dreifachweiße" und der *minor*-Sorten „Friedrichswerther", „Wadsacks kleine Thüringer" und „Dornburger" mit GMV-haltiger *Cuscuta campestris* gleichzeitig besetzt. „Dreifachweiße" wies immer nur schwachen Befall auf. „Friedrichswerther" erlitt die stärkste Schädigung, mehrere Pflanzen brachen um (Abb. 4). Die anderen beiden Sorten nahmen eine Mittelstellung ein.

Durch folgenden Versuch konnte eine Erklärungsmöglichkeit für Mißerfolge bei der GMV-Übertragung auf die Ackerbohne durch Seide gefunden werden. *Vicia faba* var. *minor*, Sorte „Wadsacks kleine Thüringer", die 14 Tage zuvor getopft worden waren und inzwischen drei Internodien gebildet hatten, wurden mit GMV-haltigen *Cuscuta subinclusa* (rotblättrig) an

den beiden unteren Internodien umwickelt. Genau so wurde mit Pflanzen der gleichen Sorte verfahren, welche jedoch 20 Tage älter waren und bereits fünf bis acht Internodien entwickelt hatten, so daß sie in der Basiszone, an der die Parasitierungen vorgenommen wurden, bereits weitgehend ausdifferenziert waren. Von jeweils acht zeigten bei den jüngeren Pflanzen sechs, bei den älteren nur eine, innerhalb von 30 Tagen die charakteristische nekrotische Stengelstreifung. Da manche Seidetriebe und besonders die von *Cuscuta epithymum* erst verhältnismäßig spät den Anschluß an die Ackerbohne erreichen, hat diese, vor allem im Frühjahr und Sommer, genügend Zeit zur Erstarkung. Es kommt unter solchen Umständen nicht mehr zur Ausbildung der GMV-Symptome, selbst wenn sich die Seide später üppig entwickelt.

Abb. 4. *Vicia faba,* besetzt mit Gurkenmosaik-Virus-haltiger *Cuscuta campestris.* Links: var. *major,* Sorte Dreifachweiße; Mitte: var. *minor,* Sorte Friedrichswerther; rechts: Kontrolle (var. *minor*)

Versuche zur Erzeugung von GMV-Läsionen durch Seide auf *Vicia narbonensis* L., die morphologisch der Ackerbohne sehr nahe steht, verliefen negativ.

Vigna sinensis (L.) Endl. bildete nach Parasitierung mit GMV-haltigen Sprossen der getesteten Arten *Cuscuta campestris, C. subinclusa* (rotblättrig) und *C. californica* rötliche längliche, zum Teil gut sichtbare Nekrosestreifen. Sorgfalt bei der Bonitierung war nötig, weil die untersuchten Herkünfte von *Vigna* (Material aus dem Institut für Kulturpflanzenforschung Gatersleben und Saatgut einer chinesischen Landsorte) rötliche, zum Teil streifenförmige Pigmentierung in der Nähe der Nodien nach einer gewissen Wachstumszeit spontan erzeugten. Fünf Tage war die kürzeste Zeitspanne zwischen dem Ansetzen der Seite und dem Auftreten der Stengelnekrosen an *Vigna sinensis.*

Verschiedene *Chenopodium*-Arten sind als Bildner von nekrotischen Lokalläsionen nach Abreibung mit GMV bekannt (Roberts, Wilkinson und Ross 1951, Uschdraweit 1954 und 1955 b). Daher wurden auch an *Chenopodium album* L. und *C. quinoa* Willd. Seideübertragungsversuche mit diesem Virus durchgeführt (Tab. 3). *Chenopodium album* bildete weißlichgraue, verhältnismäßig gut sichtbare Nekrosestreifen am Stengel. *Chenopodium quinoa*

Abb. 5. Stengel von *Chenopodium quinoa*, parasitiert von *Cuscuta subinclusa*. Jeweils links: Übertragungen des Gurkenmosaik-Virus, rechts: Kontrollen. Oben: Außenansicht, unten: Längsschnitt

wies starke Einsenkungen des Stengelgewebes im Bereich der Haustorialwindungen auf, ohne daß in der Regel Nekrosen äußerlich deutlich sichtbar waren. Der aufgeschnittene Stengel ließ erkennen, daß hauptsächlich das Mark in Mitleidenschaft gezogen wurde; es war verbräunt und wies häufig Kavernen auf. Bei *Chenopodium album* traten keine Markveränderungen in Erscheinung. Durch gesunde Seide parasitierte *Chenopodium quinoa*-Stengel waren an den Befallsstellen verdickt, wobei sich vor allem die Rinde verstärkt hatte. Das Mark besaß dort nicht die sonst übliche Beschaffenheit, die von Holunder her geläufig ist, sondern war glasig (Abb. 5). Nur an jüngeren, noch gut wachsenden Pflanzen der beiden *Chenopodium*-Arten waren die erwähnten Symptome hervorzurufen. Auch hier war die Auswertung von Versuchen nicht möglich, wenn die Seide abstarb.

c) Mikroskopische Untersuchungen lokal erkrankter Wirte

Es erschien von Bedeutung, die makroskopischen Befunde an *Vicia faba* und *Vigna sinensis* durch anatomische Beobachtungen zu ergänzen. Handschnitte an Ackerbohnenstengeln ergaben, daß grundsätzlich alle Gewebsarten nekrotisiert sein konnten. Überraschenderweise wurde jedoch nicht das Phloem bevorzugt verfärbt, sondern vor allem die Zellgruppen, die peripher die Leitbündel begleiten. In einiger Entfernung oberhalb oder unterhalb der Eindringungsstellen von Haustorien blieb dieser Befall häufig das einzig sichtbare Symptom. Es war in Erwägung zu ziehen, daß in den dortigen Bezirken Phloemprimanen liegen und daß diese besonders den Schädigungen durch das Virus ausgesetzt waren. Daraufhin angestellte Beobachtungen ermittelten Verbräunungen hauptsächlich in den sklerenchymatisch werdenden

Zellgruppen, gleichgültig, ob sie im Querschnitt gesehen das Phloem als halbmondförmige Kappen umgaben, oder ob sie in den Kanten des eckigen *Vicia faba*-Stengels gelegentlich ohne unmittelbare Nachbarschaft eines Leitbündels vorkamen (Abb. 6). Ähnliches war an Querschnitten von *Vigna sinensis*-Sprossen sichtbar. Bei dieser Pflanze waren die Festigungsgewebe des Leitbündelringes ziemlich weit vom Phloem nach außen verlagert und erwiesen sich trotzdem als bevorzugt verbräunt (Abb. 7).

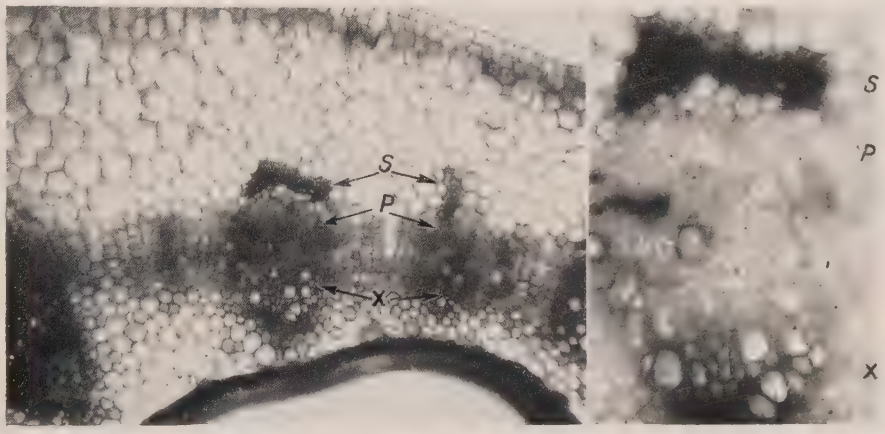


Abb. 6. Querschnitt durch den Stengel der Ackerbohne, auf den *Cuscuta campestris* das Gurkenmosaik-Virus übertragen hat. S: nekrotisierte Sklerenchymfasern, P: Phloem, X: Xylem (die Dunkelfärbung des Xylems rührt nicht von Nekrosen, sondern von stärkerer Lichtabsorption her). Links: Übersichtsbild, rechts: Ausschnitt

Die Schädigung der sklerenchymatischen Elemente dürfte bei beiden Pflanzenarten meist vor der fertigen Ausbildung der Wandverdickungen eingesetzt haben, da die befallenen Zellen fast immer kollabiert und dünnwandig waren. Nur in Einzelfällen war an der Ackerbohne ein Befall anscheinend nach der Ausdifferenzierung der Sklerenchymfasern erfolgt. Hierbei war die Bräunung schwach, die Zellstruktur erhalten und die Wanddicke entsprach benachbarten, gesund gebliebenen Zellen der gleichen Gewebeart. Damit ergibt sich eine Erklärung für

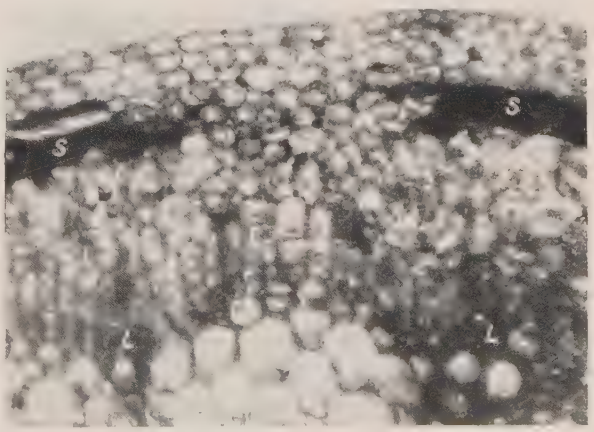


Abb. 7. Querschnitt durch den Stengel von *Vigna sinensis*, auf den *Cuscuta campestris* das Gurkenmosaik-Virus übertragen hat. S: nekrotisierte Sklerenchymstränge, L: Leitbündel

die Tatsache, daß die Parasitierung mit GMV-übertragender Seide an älteren Stengelteilen nur selten zur Entstehung von Nekrosen führt.

d) Die Seidearten als Viruswirte

In allen zu Übertragungen des GMV angesetzten Seidearten konnte das Virus durch Preßsaftabreibungen auf *Nicotiana glutinosa* nachgewiesen werden. Daneben war es auch in *Cuscuta epilinum* nach Wachstum auf infizierten Wirten zu finden. Die Versuche mit *Cuscuta lupuliformis* führten nur selten zum Virusnachweis. Vor allem war es nicht in dieser Seideart zu entdecken, wenn sie sich auf gesund gebliebenen Wirtspflanzen entwickelt hatte. Wie gezeigt werden konnte (SCHMELZER 1956), ist der Preßsaft von *Cuscuta lupuliformis* weniger virushemmend als der der meisten anderen Arten, so daß Hemmstoffe als Ursache für Nachweisschwierigkeiten nicht in Betracht zu ziehen sind. Es muß daher angenommen werden, daß diese *Cuscuta*-Art GMV nur in geringen Mengen aus den Wirtspflanzen übernimmt und zu seiner Vermehrung nicht oder nur lokal befähigt ist. Im Gegensatz hierzu sind *Cuscuta campestris, C. californica* und *C. subinclusa* als Dauerwirte anzusehen, wie die Untersuchungen von BENNETT (1940 a, 1944) und COSTA (1944) ergaben.

In eigenen Experimenten konnte das gleiche für *Cuscuta epithymum* nachgewiesen werden. Als virusimmuner Wirt wurde Luzerne (*Medicago sativa* L.) verwendet. Von dieser Pflanzenart isolierten zwar DOOLITTLE und ZAUMEYER (1953) einen GMV-Stamm, er zeigte jedoch deutliche Abweichungen vom üblichen GMV. Bei wiederholten Abreibungen mit dem GM I-Stamm konnten an Luzerne keine Infektionen bewirkt werden, wie aus dem Fehlen von Symptomen und negativ verlaufenden Reisolierungsversuchen zu schließen war.

Jeweils fünf Luzernepflanzen wurden mit GM I-haltiger *Cuscuta epithymum* besetzt, auf zwei Pflanzen kam zur Kontrolle gesunde Seide. In Abständen von vier bis acht Wochen wurde Seide abgetrennt und auf eine neue Serie Luzernepflanzen überführt. Gleichzeitig erfolgten durch Abreibung auf *Nicotiana glutinosa* Testungen des Virusgehaltes der GMV- und der Kontrollseide sowie der Luzerne. Niemals wurde in der Kontrollseide bzw. in der Luzerne GMV nachgewiesen. Dagegen fand sich das Virus immer in der GMV-Seide. Parasitierungen an *Nicotiana glutinosa* mit ihr führten stets zur Infektion aller Pflanzen. In insgesamt neun Serienpassagen wurde *Cuscuta epithymum* in der Zeit vom 3. März 1954 bis 16. März 1955 ununterbrochen auf Luzerne gehalten. Abschließend wurde der GMV-Gehalt ausgetestet. Selbst bei tausendfacher Verdünnung war das Virus im Seidepreßsaft noch nachweisbar.

Es lag nahe, ähnliche Versuche mit *Cuscuta europaea, C. gronovii* und *C. americana* anzusetzen. Schwierigkeiten, die aus den Arteigentümlichkeiten dieser drei Seidearten herrührten, verhinderten dies. Es wurde bereits ausgeführt, daß sie sehr schnell in das generative Stadium kommen, wonach sie nur wenige und kaum zu weiteren Parasitierungen geeignete Triebe entstehen lassen. Damit ist auch die geringe Zahl der angesetzten Übertragungs-

versuche zu erklären. Überdies waren Triebe von *Cuscuta americana* erst gegen Ende der Arbeit verfügbar.

Als Anhaltspunkt dafür, daß die erwähnten Seidearten sowie auch *Cuscuta epilinum* als Wirte des GMV in Frage kommen, mag folgende Beobachtung dienen: Bei sämtlichen Seidearten, mit Ausnahme von *Cuscuta lupuliformis,* wurden Erscheinungen festgestellt, die auf GMV-Befall zurückzuführen sein dürften. An *Cuscuta campestris* hat COSTA (1944) derartige Symptome beschrieben und abgebildet. Sie bestanden in Verkrümmungen, verkürzten Internodien und vermehrtem Austrieb der Achselknospen, so daß es im Extremfall zur Hexenbesenbildung kam. Bei der rotgefärbten *Cuscuta europaea* schien sogar eine schwache Scheckung des Stengels möglich zu sein. Interessant ist die Tatsache, daß die beiden GMV-Stämme GM I und GM III, von denen schon unterschiedlich schwere Schädigungen der Testpflanzen *Nicotiana glutinosa* und Samsun angegeben wurden, ähnliche Unterschiede beim Befall der Seide ergaben. Vor allem GM III führte zur Triebvermehrung, während GM I mäßige Internodienverkürzung hervorrief (Abb. 8). Dementsprechend sind von GM I infizierte Triebe vitaler als GM III-Triebe, und so erklärt es sich auch, warum GM III meist schlechter als GM I übertragen wurde.

Abb. 8. Schädigung von *Cuscuta campestris* durch das Gurkenmosaik-Virus. Links: Befall durch den starken Stamm (GM III), Mitte: Befall durch den gewöhnlichen Stamm (GM I), rechts: gesunde Kontrolle

Interessanterweise wurden Internodienverkürzung und Triebvermehrung an *Cuscuta campestris* und *C. subinclusa* auch beim Wachstum auf *Chenopodium album* verursacht. Diese Erscheinung, welche zuerst an Freilandpflanzen beobachtet wurde, ist der Schädigung durch GM III sehr ähnlich (Abb. 9). Die Triebe auf der Gänsefußart sind meist grünlich gefärbt, während der Virusbefall die gelbe bis orange Farbe der Seide nicht ändert. Daß es sich tatsächlich um eine nicht durch Infektion bedingte Nachahmung des Virussymptomes handelt, beweist die Tatsache, daß die Erscheinung in jedem

Fall auf *Chenopodium album* auftrat, auch wenn von ihr verschiedene Samenherkünfte verwandt wurden und die Anzucht im Gewächshaus erfolgte.

Abb. 9. Wuchsveränderungen von *Cuscuta campestris*. Links: durch Wachstum auf virusfreiem *Chenopodium album*, rechts: durch Einwirkung des starken Stammes des Gurkenmosaik-Virus

Der Schädigungsgrad an der Seide durch GMV schien von der Jahreszeit abhängig zu sein. In den Sommermonaten waren die Schädigungen durch GM I und den Gelbstamm in der Regel kaum ausgeprägt, während sie im Winter eine Erschwerung der Übertragungsversuche darstellten.

Bei *Cuscuta epilinum* kam es nicht zur typischen Ausbildung der oben erwähnten GMV-Symptome. Es war nicht möglich, diese Seide auf GMV-kranken Wirten zu kultivieren, sie verkümmerte stets rasch. Selbst bei nachträglicher Infektion des Wirtes hörte das Wachstum der Flachsseide auf. Daher konnten mit ihr keine Übertragungsversuche angestellt werden. *Cuscuta epilinum* wächst auf Tabak, vor allem in den Sommermonaten, nicht allzu gut. Es könnte auf besonders ungünstige Ernährungsverhältnisse bei der Parasitierung virusbefallener *Nicotiana* geschlossen werden. Jedoch gelang es, *Cuscuta epilinum* auf zahlreichen viruskranken Tabakpflanzen wachsen zu lassen; nur wenn diese vom GMV oder vom Tabakmauche-Virus befallen waren, kam es nicht zum Wachstum des Schmarotzers.

e) Prämunitätsversuche an Seide

Die Erscheinung der Prämunität ist in der pflanzlichen Virusforschung schon lange zu einem geläufigen Begriff geworden, obgleich ihre Ursachen noch als problematisch

angesehen werden und keine völlige Einmütigkeit darüber besteht, welche Bedingungen zu ihrem Zustandekommen erfüllt sein müssen. Es ist allgemein anerkannt, daß die Prämunität bei Verimpfung eines zweiten Virusstammes durch Abreibung von Blättern am besten zur Auswirkung kommt. Nicht selten werden zur Verimpfung des zweiten Virus saugende Insekten angesetzt und Prämunitätswirkungen bei dieser Methode gemeldet (z. B. Baerecke 1955), während von anderer Seite negative Ergebnisse erzielt wurden (z. B. Giddings 1950). Die Auffassung, daß bei Pfropfungen kaum Prämunitätswirkungen zu erwarten sind, hat sich wohl allgemein durchgesetzt.

Die Verwachsung der Seide mit ihrem Wirt ist einer Pfropfung zwar sehr ähnlich, doch berechtigt dies allein nicht zu der Feststellung, daß hierbei keine Prämunität möglich ist. Es erhob sich daher die Frage, ob Seide, die durch Nahrungsaufnahme aus einer viruskranken Pflanze infiziert worden war, vor einem Neubefall mit einem weiteren Stamm des gleichen Virus geschützt bleibt, wenn sie auf einem entsprechend verseuchten zweiten Wirt wächst. Zur Untersuchung dieses Problems wurde das Gurkenmosaik-Virus herangezogen, weil GM I und der Gelbstamm so große Unterschiede zeigen, daß an Hand der Symptome parasitierter oder mit Seidepreßsaft abgeriebener Pflanzen klare Ergebnissen erhofft werden konnten.

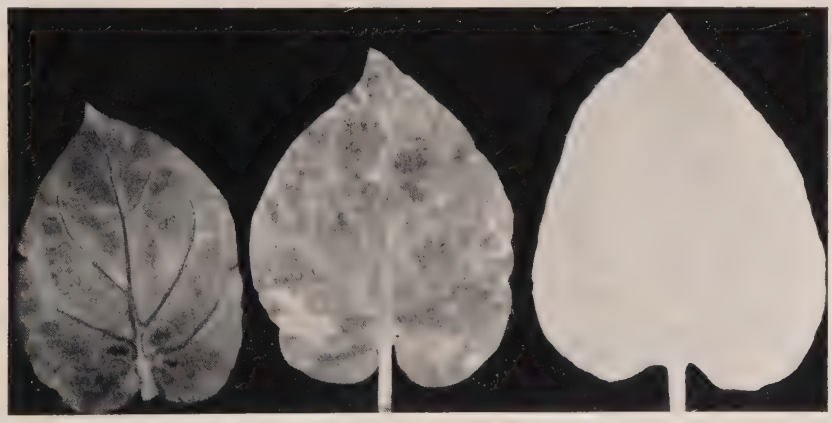


Abb. 10. *Nicotiana glutinosa*, infiziert mit Preßsaft gurkenmosaikkranker *Cuscuta campestris*. Links: Die Seide wuchs auf einer mit dem Grünstamm infizierten Pflanze, Mitte: Seide zuerst auf „Grünstamm-", dann auf „Gelbstammpflanze" gewachsen, rechts: Seide gewachsen auf „Gelbstammpflanze"

Der Gelbstamm verursacht als erstes Symptom auf *Nicotiana glutinosa* eine im allgemeinen gut ausgeprägte netzförmige Gelbfärbung der Adern von Spitzenblättern. Beim Vorliegen des Grünstammes als Komponente des Befalles treten mehr oder weniger starke Unterbrechungen in diesem Netz auf, an denen eine Mischinfektion gut erkennbar ist. Sehr häufig kommt es durch den Gelbstamm auf den Blättern mit ursprünglicher Adernaufhellung zur nahezu völligen Weißfärbung. Später gebildete Blätter zeigen von Anfang an eine Weiß-Dunkelgrün-Scheckung, ausgesprochenes Hellgrün fehlt so gut wie vollständig. Der Grünstamm erzeugt dagegen die Farben Gelb und Hellgrün, die bei ihm fließend ineinander übergehen. In Mischungen sind alle Zwischenstufen dieser Symptome zu finden (Abb. 10).

Von Seide, die etwa vier bis acht Wochen auf Wirten des einen GMV-Stammes gewachsen war, wurden Triebe abgetrennt und auf Pflanzen überführt, welche den anderen

Virusstamm enthielten. Nachdem auch auf dem zweiten Wirt Triebe entstanden waren, wurde an *Nicotiana glutinosa* festgestellt, wie weit sich der zuletzt mit der Seide in Berührung gekommene Stamm durchsetzen konnte.

Bei den Parasitierungsversuchen zu dieser Frage war der Umstand hinderlich, daß zwischen dem Erscheinen der Symptome an den zu infizierenden gesunden Wirtspflanzen und der endgültigen Auswertung im Höchstfall drei Wochen verstrichen. Bereits durch den Nahrungsentzug seitens des Schmarotzers entstanden in dieser kurzen Zeit nur wenige Blätter, an denen das Symptombild beurteilt werden konnte. Es war immer wieder festzustellen, daß die rotblättrige Form von *Cuscuta subinclusa* Mischinfektionen übertrug, gleichgültig, ob sie erst auf einem gelbstamm- und dann auf einem grünstammkranken Wirt parasitiert hatte oder umgekehrt. Seide, die nur auf einer kranken Pflanze gewachsen war, übertrug nur deren Virusstamm.

In einer Reihe von Versuchen wurden auf den zweiten Wirten gebildete sowie nicht von ihren ersten Wirten entfernte Triebe von *Cuscuta campestris* und *C. subinclusa* (rotblättrig) und Blätter ihrer Wirtspflanzen ausgepreßt. Die Abreibungen erfolgten getrennt auf junge *Nicotiana glutinosa*-Pflanzen. Hier konnte die Einteilung in Gelbstamm-, Grünstamm- und Mischinfektionen besser durchgeführt werden. Die Beimpfungen mit Wirtspflanzenpreßsaft und mit Material von Seide, welche keinen „Wirtswechsel" durchgemacht hatte, ergaben reine Gelb- bzw. Grünstammsymptome. Stets waren Mischinfektionen mit *Cuscuta*-Preßsaft zu beobachten, wenn der Schmarotzer nacheinander auf gelbstamm- und grünstamminfizierten Pflanzen parasitiert hatte oder die Reihenfolge der Wirte umgekehrt war.

2. Luzernemosaik-Virus

a) Übertragungsversuche

Versuche zur Seideübertragung des Luzernemosaik-Virus wurden bisher nur zweimal in begrenztem Umfang gemacht. E. M. JOHNSON (1946) übertrug das gewöhnliche Luzernemosaik-Virus (LMV) mit Hilfe einer nicht näher bestimmten Seideart auf *Cucumis sativus* L.; KREITLOW und PRICE (1949) arbeiteten mit einem Weißkleestamm (*Marmor medicaginis* var. *ladino* Kreitl. et Pr.) und erreichten keine Übertragungen mittels *Cuscuta campestris* auf *Trifolium repens* L.

Die eigenen Untersuchungen wurden in der Hauptsache mit dem von Luzerne isolierten Stamm des LMV durchgeführt. Zur Erzielung übertragungsfähiger Sprosse wuchs die Seide auf infizierten *Nicotiana glutinosa*- oder Samsun-Pflanzen. Es erwiesen sich *Cuscuta campestris, C. epilinum, C. europaea, C. lupuliformis* und *C. subinclusa* (rot- und weißblättrige Form) als Überträger des LMV von Tabak auf Tabak (Samsun oder *Nicotiana glutinosa*). *Cuscuta californica* und *C. epithymum* übertrugen das Virus dagegen nicht, obwohl mit ihnen zahlreiche Versuche zu verschiedenen Jahreszeiten liefen und in mehreren Fällen bei *Cuscuta epithymum* sogar eine Brückenbildung zwischen kranken und gesunden Pflanzen bestand. Die Experimente mit *Cuscuta gronovii* sind nur in geringer Anzahl und ausschließlich während des Sommers angestellt worden. Die Frage, ob sie als Vektor des Virus zu gelten hat, bleibt noch ungeklärt.

Tabelle 5

Seide-Übertragungsversuche mit einem von *Medicago* isolierten Stamm des Luzernemosaik-Virus auf *Nicotiana*-Arten

Cuscuta-Art	*Nicotiana*	
	tabacum (Sorte Samsun)	*glutinosa*
campestris	44/99[a] (34)[b]	5/27 (8)
subinclusa, rotblättrig	51/102 (35)	3/9 (4)
subinclusa, weißblättrig	4/14 (5)	
californica	0/83 (28)	0/63 (23)
gronovii	0/14 —	
epithymum	0/25 (8)	0/104 (39)
europaea	68/94 (38)	5/12 (4)
epilinum	24/39 (11)	
lupuliformis	2/5 —	

[a] [b] siehe Tabelle 2.

In Tabelle 5 sind die Übertragungsversuche mit Seide bei Verwendung von *Nicotiana*-Arten als zu infizierende Pflanzen zusammengefaßt dargestellt. Die erhaltenen Ergebnisse zeigen, daß keine der Seidearten immer oder in fast jedem Fall das LMV übertrug. Abstufende Bewertungen der als relativ erfolgreiche Vektoren festgestellten Arten können schwerlich gemacht werden, da jahreszeitlich bedingte Unterschiede im Übertragungserfolg auftraten.

Tabelle 6

Übertragbarkeit des Luzernemosaik-Virus auf *Nicotiana tabacum* (Sorte Samsun) mit *Cuscuta campestris* und *C. europaea* in verschiedenen Monaten

Monat	*Cuscuta*-Art	
	campestris	*europaea*
Februar	16/22[a] (9)[b]	7/10 (4)
März	2/4 (2)	31/38 (17)
April	22/48 (15)	23/29 (12)
Mai	1/10 (3)	3/11 (4)

[a] [b] siehe Tabelle 2.

Aus Tabelle 6 ist vor allem für *Cuscuta campestris* zu ersehen, wie sich von Februar bis Mai die Infektionsergebnisse verschlechterten. Bei *Cuscuta europaea* war diese Erscheinung weniger ausgeprägt. Das Absinken der Infektionsprozentsätze bei *Cuscuta campestris* mit fortschreitender Jahreszeit dürfte zum Teil auch erklären, warum eine der drei von *Solanum nigrum* L. isolierten Herkünfte des LMV nicht durch diese Seideart übertragen werden konnte (Tab. 7). Das negative Ergebnis bei der Prüfung von *Cuscuta californica* als Überträger der drei Isolate entsprach den Befunden mit dem von der Luzerne gewonnenen Stamm.

Tabelle 7

Seide-Übertragungsversuche mit drei von *Solanum nigrum* erhaltenen Isolaten des Luzernemosaik-Virus auf *Nicotiana tabacum* (Sorte Samsun)

Cuscuta-Art	Isolat		
	1	2	3
campestris	3/19[a] (5)[b]	12/23 (6)	0/14 (3)
californica	0/15 (4)	0/14 (5)	0/19 (6)

a) b) siehe Tabelle 2.

Nicotiana glutinosa scheint nicht so leicht wie Samsuntabak durch *Cuscuta campestris* mit LMV infiziert werden zu können. In drei Versuchen wurden die beiden Testpflanzenarten gleichzeitig mit Seide besetzt. In zweien dieser Experimente erkrankte Samsun wesentlich häufiger als *Nicotiana glutinosa*. Ingesamt erwiesen sich 12 von 29 Samsun- gegenüber nur 5 von 27 *Nicotiana glutinosa*-Pflanzen als infiziert. Ob die Verwendung von *Nicotiana glutinosa* bzw. Samsun als viruskranke Ausgangspflanze Einfluß auf den Übertragungserfolg hat, wurde nicht geprüft.

Es war vor allem bei Samsuntabak relativ spät oder gar nicht möglich, auf Grund von Symptomen eine gelungene LMV-Infektion mit Seide festzustellen. Daher waren elf Tage die kürzeste Zeitspanne zwischen dem Versuchsbeginn und dem Auftreten der Symptome der Isolierung von Luzerne. Das Isolat Nr. 2 von *Solanum nigrum* prägte sich besser aus und konnte in zwei Fällen schon sieben Tage nach dem Ansetzen von *Cuscuta campestris* auf Samsun entdeckt werden.

Von vier Mitte Mai mit LMV-haltiger *Cuscuta campestris* besetzten *Medicago sativa*-Pflanzen erkrankte eine deutlich, die übrigen blieben ebenso wie die zwei Kontrollpflanzen gesund.

Auch auf *Vicia faba* wurden LMV-Übertragungsversuche mit Seide angestellt. Es fand ausschließlich die Varietät *minor* Verwendung, da in vergleichenden Abreibungen zur Untersuchung der Reaktionsfähigkeit der beiden Formen der Ackerbohne die Varietät *major*, vertreten durch „Dreifachweiße", wesentlich schwächere Symptome als die Varietät *minor* gab. Als erstes Symptom der LMV-Übertragung durch *Cuscuta* entstanden diffuse braunrote Verfärbungen der Spitzenblätter, etwas später konnte die bei SMITH (1937) erwähnte systemische Nekrose auftreten.

Es gelang, auch mit LMV Lokalläsionen durch Seideübertragung zu erzeugen. *Cuscuta campestris* und *C. europaea* bewirkten Lokalläsionen in Form von braunen, nicht allzu langen Streifen an den Stengeln von *Phaseolus vulgaris* L., Sorte Prinsa. Sechs Tage waren die kürzeste Zeitspanne zwischen Versuchsbeginn und Auftreten der Symptome. Die Gartenbohne ist kein guter Wirt der Seidearten, daher kam es kaum zu einem Wachstum des Schmarotzers. Er vertrocknete verhältnismäßig schnell. Die Bohne reagierte darauf mit Nekrosen, die die Versuchsauswertung erschwerten.

Vigna sinensis (chinesische Landsorte) wurde ebenfalls mit LMV-haltiger *Cuscuta campestris* besetzt. Verwendung fand in diesem Fall das Isolat Nr. 2 von *Solanum nigrum*. Die erzielten Läsionen waren denen, die an der gleichen Pflanze durch das Gurkenmosaikvirus entstanden, ziemlich ähnlich. In zwei Fällen kam es jedoch zu einem Übergreifen der Nekrosen auf Stiele und Nerven dreifiedriger Blätter, was bei GMV nie beobachtet werden konnte. In Tabelle 8 sind LMV-Übertragungsversuche auf verschiedene Leguminosen zusammengefaßt dargestellt.

Tabelle 8

Seide-Übertragungsversuche mit dem Luzernemosaik-Virus auf verschiedene Leguminosen

Cuscuta-Art	Versuchspflanze	Anzahl der Pflanzen	
campestris	*Vicia faba* var. *minor*	6/20[a]	(7)[b]
subinclusa, rotblättrig	*Vicia faba* var. *minor*	16/38	(15)
californica	*Vicia faba* var. *minor*	0/5	(3)
campestris	*Vigna sinensis*	27/29	(11)
campestris	*Phaseolus vulgaris*	3/3	(2)
europaea	*Phaseolus vulgaris*	13/23	(13)

[a] [b] siehe Tabelle 2.

b) Virusnachweis in Seide

Die Tabelle 9 gibt die Experimente zum Nachweis des Luzernemosaik-Virus in den Seidearten durch Abreibung von *Nicotiana glutinosa* wieder. Die Schmarotzer wuchsen auf kranken Pflanzen von *Nicotiana glutinosa* oder *N. tabacum*, Sorte Samsun, die zur Kontrolle ebenfalls getestet wurden. In jedem Fall kam unverdünnter Preßsaft zur Verwendung. Es ist erkennbar, daß auch in LMV-übertragenden *Cuscuta*-Arten das Virus nicht immer festzustellen war. In den Nichtüberträgern *Cuscuta californica* und *C. epithymum* konnte es niemals aufgefunden werden.

Bei Versuchen zum Nachweis des Virus im Seidepreßsaft durch Beimpfung von *Phaseolus vulgaris* entstanden keine Läsionen, obgleich Preßsaft der jeweiligen Wirtspflanze diese erzeugte. Nur in einem Falle, bei Prüfung der rotblättrigen Form von *Cuscuta subinclusa*, ergaben sich durchschnittlich 3,4 Läsionen je Blatt, während 16,7 Läsionen der Durchschnitt auf den mit Preßsaft von *Nicotiana glutinosa* abgeriebenen Blättern war.

Aufschluß über diese Ergebnisse brachten Untersuchungen über die Hemmeigenschaften der *Cuscuta*-Preßsäfte. *Phaseolus vulgaris* stellt eine für Hemmstoffe der Seide besonders empfindliche Pflanze dar (Schmelzer 1956). Somit war der auch bei Verwendung von *Nicotiana glutinosa* als Testmaterial wahrscheinlich gestörte Virusnachweis hier noch stärker beeinträchtigt. *Cuscuta subinclusa* wurde als diejenige Seideart erkannt, deren Preßsaft keine oder nur geringe Hemmeigenschaften hat, daher ergab sich mit ihr ein positiver Test.

Tabelle 9

Versuche zum Nachweis des Luzernemosaik-Virus im Seidepreßsaft durch Abreibung auf *Nicotiana glutinosa*

Cuscuta-Art	Preßsaft von	Anzahl der Pflanzen						
campestris	Seide	6/6[a]	6/6	5/5	0/6[b]	0/6[c]	0/6[d]	0/6[b]
	Wirt	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
subinclusa, rotblättrig	Seide	0/6	6/6					
	Wirt	3/3	3/3					
subinclusa, weißblättrig	Seide	0/6	0/6					
	Wirt	3/3	3/3					
californica	Seide	0/6	0/6	0/6[b]	0/6[c]	0/6[d]		
	Wirt	2/2	3/3	3/3	3/3	3/3		
gronovii	Seide	0/6	0/6					
	Wirt	3/3	3/3					
epithymum	Seide	0/6	0/6	0/6	0/6			
	Wirt	2/2	3/3	3/3	3/3			
europaea	Seide	5/6	6/6	0/6				
	Wirt	2/2	3/3	3/3				
epilinum	Seide	6/6	6/6	1/6				
	Wirt	3/3	3/3	3/3				
lupuliformis	Seide	3/6						
	Wirt	2/3						

[a]) Der Zähler gibt die Anzahl der infizierten, der Nenner die Anzahl der abgeriebenen Pflanzen an.

[b]) [c]) [d]) Nachweisversuche unter Verwendung der Virusisolierung Nr. 1, 2 bzw. 3 von *Solanum nigrum*.

Untersuchungen über die Zeitdauer, während der sich das LMV in Seide trotz deren Wachstum auf immunen Wirten halten kann, wurden mit dem Isolat 2 von *Solanum nigrum* angesetzt. Dieses hatte mehrfach seine Affinität zu *Cuscuta campestris* unter Beweis gestellt. Triebe der genannten Seideart wuchsen auf krankem Samsuntabak und wurden von dort auf *Campanula medium* L. übergesetzt, die PRICE (1940) als immun für das LMV angab. Zwanzig Tage später kamen drei dort entwickelte Seidestengel auf gesunde Tabakpflanzen, einer davon übertrug das Virus. Eine zweite Prüfung wurde nach weiteren fünf Tagen durchgeführt, indem der Preßsaft von drei Seidekolonien sowie ihrer virusimmunen Wirte auf *Nicotiana glutinosa* getrennt abgerieben wurde. Alle Beimpfungen mit Preßsaft der Wirtspflanzen bzw. von zwei Seidekolonien verursachten keine Infektionen, während sämtliche Abreibungen mit Material der dritten Seidekolonie erfolgreich verliefen. Mindestens 25 Tage lang konnte sich also das LMV-Isolat in *Cuscuta campestris* nach Wachstum auf einem virusimmunen Wirt halten. Symptome einer Schädigung durch LMV wurden an keiner Seideart beobachtet.

3. Tabakmauche-Virus

a) Übertragungsversuche

In einer kurzen Mitteilung wurde über erfolgreiche Seideübertragungsversuche mit dem Tabakmauche-Virus (MV) berichtet (SCHMELZER 1955 a). Als Vektoren erwiesen sich

Cuscuta campestris und *C. subinclusa*, während *C. californica* das Virus nicht übertrug. Noch im gleichen Jahre gab VAN DER WANT (1955) *Cuscuta campestris* ebenfalls als Überträger des MV an. Infektionserfolge mit *Cuscuta subinclusa* hatte er nicht erzielen können. Als virusanfällige Wirtspflanze fand in seinen Versuchen *Callistephus chinensis* Nees Verwendung.

Die eigenen Experimente zur Übertragbarkeit des MV wurden auf sämtliche verfügbaren *Cuscuta*-Arten ausgedehnt. Hinsichtlich ihrer Vektoreigenschaften können die Seidearten und -herkünfte auf Grund der Versuche mit Samsuntabak (Tab. 10) in vier Gruppen eingeteilt werden.

Tabelle 10

Seide-Übertragungsversuche mit dem Tabakmauche-Virus auf *Nicotiana tabacum* und *Vicia faba*

Cuscuta-Art	*Nicotiana tabacum*		*Vicia faba*	
campestris	97/100[a]	(53)[b]	44/46	(16)
gronovii	66/105	(40)	7/15	(6)
subinclusa, rotblättrig	37/110	(45)	8/42	(15)
subinclusa, weißblättrig	2/54	(21)	—	—
californica	0/100	(35)	—	
americana	0/8	—	—	—
epithymum, Ascherleben	0/103	(46)	0/9	(4)
epithymum, Jena	0/8	—	—	—
europaea	24/82	(39)	4/20	(5)
epilinum	5/8	(7)	—	—
lupuliformis	86/102	(27)	11/18	(5)

[a]) Der Zähler gibt die Anzahl der infizierten, der Nenner die Anzahl der parasitierten Pflanzen an.

[b]) Die Anzahl der Kontrollen, parasitiert mit virusfreier Seide, ist in Klammern gesetzt. Alle Kontrollen blieben virusfrei.

Zur ersten Gruppe gehören *Cuscuta campestris*, *C. gronovii* und *C. lupuliformis*. Sie vermittelten meistens oder fast immer MV-Infektionen. Auch die Infektionsrate, die durch *Cuscuta europaea* und die rotblättrige Form von *C. subinclusa* erreicht wurde, ist relativ hoch. Bei der Abfassung der obenerwähnten Mitteilung lagen nur Versuche mit der rotblättrigen *Cuscuta subinclusa* vor. Im Gegensatz dazu war die weißblättrige *Cuscuta subinclusa* nur selten zur Übertragung des Virus befähigt. Die vierte Gruppe bilden *Cuscuta californica* und *C. epithymum*, die keine Übertragungen vermittelten und bemerkenswerterweise bereits beim Luzernemosaik-Virus versagt hatten. *Cuscuta epilinum* gehört wahrscheinlich zur Gruppe der wirksamsten Überträger. Leider konnte mit ihr nur wenig experimentiert werden, weil sie starke Schädigungen durch das Virus erlitt. *Cuscuta americana* ist vermutlich kein Vektor des MV. Der Umstand, daß mit ihr im Sommer gearbeitet werden mußte, weil sie nicht eher zur Verfügung stand, ist aber nicht außer acht zu lassen. Die Differenzen zwischen den beiden Formen von *Cuscuta subinclusa* in der Fähigkeit zur Vermittlung von Infektionen finden nicht in jahreszeitlichen Einflüssen eine Erklärung. Ein großer Teil der Versuche lief gleichzeitig, und dennoch unterschieden sich die beiden Formen deutlich.

Die ersten Anzeichen für eine gelungene Übertragung des MV konnten bereits sechs Tage nach dem Ansetzen der Seide auf Tabak sichtbar sein. Sie bestanden in grauen Verfärbungen der von den Parasiten umschlungenen Stengel oder Blattstiele, die deutlich von den in das Wirtsgewebe eingedrungenen Haustorien ausgingen (Abb. 11). Etwas später kam es fast immer zu einem systemischen Befall des Tabaks. Im Gegensatz dazu war der Anteil der zu systemischer Erkrankung führenden Infektionen in Abreibungsversuchen deutlich geringer.

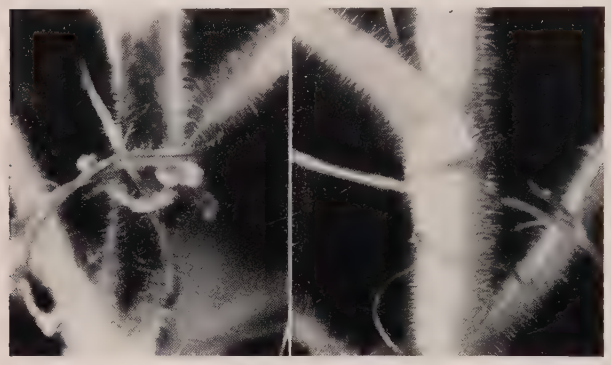


Abb. 11. Stengel von *Nicotiana tabacum* (Sorte Samsun) zehn Tage nach dem Ansetzen von *Cuscuta campestris*. Links: Seide Tabakmauche-Virus-haltig, rechts: Seide virusfrei

Übertragung des MV auf *Nicotiana glutinosa* mittels *Cuscuta campestris* war möglich und gelang bei allen parasitierten Pflanzen. Auch unter Verwendung dieses Wirtes versagten *Cuscuta californica* und *C. epithymum*. Es sei erwähnt, daß *Nicotiana glauca* Grah. systemisch infiziert werden konnte. In den zwei angesetzten Versuchsserien erkrankten alle 13 mit virushaltiger *Cuscuta campestris* besetzten Pflanzen. Symptome wurden frühestens nach 17 Tagen beobachtet. Die drei Kontrollpflanzen blieben gesund (Abb. 12).

Abb. 12. *Nicotiana glauca*, parasitiert durch *Cuscuta campestris*. Links: Seideinfektion mit dem Tabakmauche-Virus, rechts: Seide virusfrei

Bei der Suche nach Pflanzenarten, die als Wirte der Seide in Frage kommen, ohne für MV anfällig zu sein, wurden viele bisher unbekannte Wirtspflanzen des Virus gefunden (SCHMELZER 1955 b). Auch Ackerbohnen wurden mit MV-Preßsaft abgerieben, sie entwickelten schwarze Lokalläsionen. In Analogie zu den Verhältnissen beim Gurkenmosaikvirus war die Bildung von Stengelnekrosen an *Vicia faba* nach Befall durch MV-haltige Seide zu vermuten. Im Experiment bestätigte sich diese Annahme. Die mit einigen *Cuscuta*-Arten erhaltenen Befunde sind in Tabelle 10 verzeichnet. Ähnlich wie beim Gurkenmosaik-Virus waren auch hier die Infektionsprozentsätze an der Ackerbohne häufig geringer als am Tabak. Die Unterschiede zwischen den guten und den weniger guten Überträger-Arten kamen dennoch deutlich zum Ausdruck. Die Analogie zum Gurkenmosaik-Virus ging so weit, daß die Varietät *major* wesentlich schwächer als die Varietät *minor* reagierte. Eine gewisse Erklärung für die unterschiedliche Symptomausprägung des seideübertragenen MV ergab sich aus mechanischen Beimpfungen an Blättern. *Vicia faba* var. *minor* entwickelte ziemlich große Lokalläsionen, von denen aus das Virus häufig in den Stengel einwanderte, ein Zusammenbruch der Pflanze konnte die Folge sein. Die von der Varietät *major* gebildeten Läsionen waren wesentlich kleiner (Abbildung 13). In der Farbe waren die durch *Cuscuta*-Übertragung des MV verursachten Stengelnekrosen an *Vicia faba* etwas von denen des Gurkenmosaik-Virus verschieden. Während die MV-Läsionen im allgemeinen tief schwarz waren, hatten die letzteren vorwiegend bräunliche Tönung. Der früheste Termin,

Abb. 13. Lokalläsionen des Tabakmauche-Virus durch mechanische Beimpfung von *Vicia faba*. Oben: var. *minor* (Sorte Wadsacks kleine Thüringer), unten: var. *major* (Sorte Dreifachweiße)

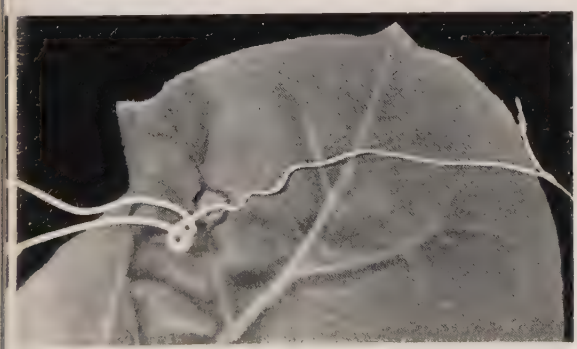


Abb. 14. Lokalläsion auf dem Blatt des Samsuntabaks, hervorgerufen durch das Eindringen von Haustorien Tabakmauche-Virus übertragender *Cuscuta campestris*

zu dem die Bildung von MV-Nekrosen beobachtet wurde, war der fünfte Tag nach dem Ansetzen von virushaltiger Seide.

Läsionen auf Tabakblättern konnten durch Andrücken von MV-haltiger *Cuscuta campestris* mittels Glasscheiben hervorgerufen werden. Sie gingen binnen weniger Tage von den in das Wirtspflanzengewebe eingedrungenen Haustorien aus und glichen denen, die nach mechanischer Beimpfung entstehen (Abb. 14).

Alle bisher geschilderten Experimente wurden mit der aus Holland stammenden Isolierung durchgeführt. Die drei aus Braunschweig bezogenen Isolate zeigten in Übertragungsversuchen mit *Cuscuta campestris* und *C. californica* im wesentlichen die gleichen Eigenschaften wie das holländische Virus (Tab. 11), auch sie ließen sich durch *Cuscuta campestris* übertragen und riefen Stengelnekrosen an *Vicia faba* hervor. Nur eine Abweichung war zu verzeichnen. Die Isolate bildeten oft die primären Befallsstellen am Tabakstengel wenig deutlich aus, so daß die Virusinfektion in solchen Fällen erst im systemischen Erkrankungsstadium entdeckt wurde.

Tabelle 11

Seide-Übertragungsversuche mit den Braunschweiger Isolaten des Tabakmauche-Virus

Cuscuta-Art	parasitierte Pflanze	Isolierung von Tabak		Kartoffel		Ackergänsedistel	
campestris	Samsuntabak	10/10[a]	(4)[b]	10/10	(3)	10/10	(3)
californica	Samsuntabak	0/9	(3)	0/10	(3)	0/10	(4)
campestris	*Vicia faba*	10/10	(3)	9/10	(3)	10/10	(1)

[a] [b] siehe Tabelle 10.

b) Virusnachweis in Seide

Alle zur Übertragung des MV befähigten Seidearten enthielten dieses Virus nach Wachstum auf kranken Wirten (*Nicotiana tabacum*, Sorte Samsun) in nachweisbarer Menge, wie eine größere Anzahl von Abreibungen auf Samsuntabak mit unverdünntem Preßsaft aus Seidesproßmaterial bewies. Zu sämtlichen Versuchen erfolgten Kontrollbeimpfungen auf jeweils zwei bis drei Pflanzen mit Preßsaft der kranken Seidewirte. Sie ergaben stets hundertprozentige Infektionen.

Obgleich beide geprüften Herkünfte von *Cuscuta epithymum* keine Vektoren des Virus sind, war es mehrfach in der Herkunft Aschersleben, jedoch nicht in der Herkunft Jena nachzuweisen. Diese Ergebnisse lassen nicht den Schluß auf eine Differenzierung zwischen ihnen zu, da in den Sommermonaten beide Herkünfte kein MV enthielten und nur die Aschersleber Herkunft auch in der übrigen Zeit des Jahres zur Untersuchung kam. Echte Unterschiede wiesen ebenso wie in den Übertragungsversuchen die beiden Formen von *Cuscuta subinclusa* auf. Zeitlich parallel laufende Teste auf

Virusgehalt, wobei in einigen Fällen beide Formen auf ein und derselben kranken Samsunpflanze wuchsen, ließen das klar erkennen (Tab. 12).

Tabelle 12

Versuche zum Vergleich des Gehaltes an Tabakmauche-Virus der beiden Formen von *Cuscuta subinclusa*

Versuchsdatum	Anzahl der mit Seidepreßsaft infizierten von je sechs beimpften Samsunpflanzen[a])	
	rotblättrig	weißblättrig
15. März	6	0
21. März	6	0
12. April	0	0
25. April	5	0
25. April	6	0

[a]) Kontrollabreibungen mit Preßsaft der kranken Seidewirtspflanzen ergaben stets hundertprozentige Infektionserfolge.

Aus frei gewachsenen Sproßteilen von *Cuscuta californica* und *C. americana* war niemals infektiöser Preßsaft zu gewinnen. In weiteren Versuchen kamen daher Haustorialwindungen zur Testung. Nach sorgfältiger Entfernung anhaftender Wirtsgewebsfetzen wurden sie gründlich gewaschen und nach Abtrocknen mit sterilem Filtrierpapier ausgepreßt. In zwei Versuchen mit jeweils zehn Pflanzen konnte auch unter diesen Bedingungen in *Cuscuta californica* kein MV festgestellt werden, dagegen erkrankten sämtliche mit *C. americana* in zwei weiteren Experimenten abgeriebenen Samsunpflanzen.

Auch im Nachweisversuch verhielten sich die drei Braunschweiger MV-Isolate genau so wie das holländische, das heißt, alle mit *Cuscuta campestris*-Preßsaft beimpften Pflanzen wurden infiziert, während das Material von *C. californica* wiederum keine Erkrankungen auslöste.

c) Die Seidearten als Viruswirte

In drei Versuchen mit *Cuscuta campestris* und einem mit *C. europaea* wurde durch mechanische Beimpfung derselben geprüft, ob sie als Wirte des MV angesehen werden können. Jeweils sechs Seidetriebe (Länge 10 cm) wurden mit Preßsaft aus mauchekrankem Tabak und zwei Kontrolltriebe mit virusfreiem Preßsaft in den unteren 5 cm abgerieben. Nach gründlichem Abspülen kamen alle Triebe einzeln auf gesunde junge Tabakpflanzen. Nur einer der 18 beimpften Sprosse von *Cuscuta campestris* verursachte eine Erkrankung des Wirtes, und zwar nach 27 Tagen. Wie üblich, gingen die ersten Symptome von den Haustorien aus. Keine der sechs *Cuscuta europaea*-Pflanzen vermittelte eine Infektion.

Das Ergebnis dieser Versuche ist nicht verwunderlich, da die Seide auf mechanische Verletzungen mit schnellem Vertrocknen der betroffenen Teile reagiert und dadurch die Vermehrung und der Weitertransport von Viren unterbunden bzw. erschwert werden. Für *Cuscuta campestris* konnte jedoch

durch den einen positiven Fall bewiesen werden, daß sie zumindestens begrenzte Zeit als Wirt des MV zu fungieren vermag. Ohne Vermehrung in der Seide dürfte vermutlich die geringe applizierte Virusmenge nicht über die Haustorien bis in den Tabak gelangt sein.

Die Frage, ob sich MV ständig in *Cuscuta campestris* vermehren kann, wurde unter Verwendung der Zuckerrübe (*Beta vulgaris* L.) als Seidewirt geprüft.

Diese hatte, in zwei Versuchen mit dem Virus abgerieben, keine Symptome gezeigt, und es konnte weder in den beimpften noch in den jüngsten Blättern MV nachgewiesen werden. In später angestellten Experimenten wurden ziemlich undeutliche kleine chlorotische oder leicht nekrotische Flecke an den abgeriebenen Blättern beobachtet, auch fand sich das Virus in geringer Menge bei der Rücktestung dieser Blätter. Von Chenopodiaceen ist bekannt, daß ihr Preßsaft ausgesprochen virushemmend wirksam ist (GRANT 1934, KUNTZ und WALKER 1947, MANIL 1949 a und b). Die Zuckerrübe macht dabei keine Ausnahme. Deshalb wurde im Verdünnungstest bis 1 : 1000 geprüft, ob Hemmstoffwirkung die Virusabwesenheit in den Folgeblättern vortäuscht. Stärkere Verdünnung kann bekanntlich die Hemmung rückgängig machen. Es war jedoch auch unter diesen Umständen kein MV in Folgeblättern nachzuweisen.

Jeweils fünf Rüben wurden mit *Cuscuta campestris* parasitiert, die ihren Virusgehalt zuvor durch Erzeugung von Nekrosen auf *Vicia faba* bewiesen hatte. Eine Rübe mit virusfreier Seide diente als Kontrolle. Vom 8. Februar bis 1. August 1955 wurde die Seide auf Rüben gehalten. Im Abstand von dreißig Tagen kamen Triebe auf neue Serien von Pflanzen, so daß insgesamt sechs Passagen erfolgten.

Nachdem die Seide 20 Tage auf der Rübe gesessen hatte, wurde ihr Virusgehalt im Verdünnungsversuch mit einer mauchekranken Samsunpflanze verglichen. Die in Tabelle 13 verzeichneten Zahlen der Lokalläsionen beweisen, daß die Viruskonzentration im *Cuscuta campestris*-Preßsaft keineswegs hinter der des Tabakpreßsaftes zurückblieb, sondern anscheinend sogar

Tabelle 13

Gehalt an Tabakmauche-Virus von *Cuscuta campestris* nach Wachstum auf *Beta vulgaris*

Preßsaft-verdünnung	Anzahl der beimpften Blätter	Abreibungen auf *Nicotiana rustica* am 28. 2. 1955		Abreibungen auf *Nicotiana tabacum*, Sorte Virginia am 1. 8. 1955	
		Seide, gewachsen 20 Tage auf Rüben	Samsun, tabakmauchekrank seit 17. 1.	Seide, gewachsen 6 Monate auf Rüben	Samsun, tabakmauchekrank seit 17. 3.
unverdünnt	4	3,5 a)	6,5	0,00	2,0
10^{-1}	6	11,4	7,0	9,7	7,0
10^{-2}	10	3,8	2,7	8,6	2,0
10^{-3}	20	1,4	0,2	1,4	0,5
10^{-4}	30	0,27	0,03	0,17	0,07

a) Durchschnittliche Anzahl der Lokalläsionen je Blatt.

höher war. Nach jeder Passage auf der Rübe wurde die Anwesenheit des MV in der „Versuchsseide" erneut festgestellt, während in der „Kontrollseide" sowie in sämtlichen Rübenpflanzen kein Virus zu finden war. Am Ende des Versuches fand erneut eine Austitration statt. Aktive Viruspartikeln

konnten abermals noch bei zehntausendfacher Verdünnung im Seidepreßsaft festgestellt und höhere Läsionszahlen als mit vergleichbarem Tabakpreßsaft erzeugt werden. Dieser hohe Virusgehalt in *Cuscuta campestris* ist mit größter Wahrscheinlichkeit auf eine dauernde Vermehrung des MV in ihr selbst zurückzuführen. Es erscheint zwar durch etwaige lokale Vermehrung des Virus in der Rübe an den Eindringungsstellen der Haustorien ein Zustrom in den Schmarotzer möglich, er dürfte jedoch kaum eine Rolle gespielt haben.

Neben *Cuscuta campestris* sind wahrscheinlich auch *Cuscuta gronovii* und *C. lupuliformis* Dauerwirte des MV, auch für *C. epilinum* trifft das vielleicht zu. Alle geprüften Pflanzen von *Cuscuta lupuliformis*, die, ohne eine Erkrankung hervorzurufen, 30 bis 40 Tage auf Samsun parasitiert hatten, enthielten das MV noch in großer Menge. Bei einem Exemplar von *Cuscuta epilinum* war das gleiche der Fall. Die übrigen das Virus übertragenden oder enthaltenden Seidearten sind wahrscheinlich nicht zu seiner dauernden Vermehrung befähigt. Nach dreißigtägigem Wachstum auf gesund gebliebener *Vicia faba* konnte in *Cuscuta epithymum* kein MV mehr nachgewiesen werden, obgleich sie zur damaligen Zeit (Januar) auf mauchekrankem Tabak virushaltig war. Triebe des rotblättrigen Klons von *Cuscuta subinclusa* wurden von kranken Samsunpflanzen auf Zuckerrüben überführt. Nach 21 Tagen enthielt nur noch eine von vier Kolonien das Virus. Prüfungen des Virusgehaltes dieser *Cuscuta subinclusa*-Form nach längerem Wachstum auf gesund gebliebenem Tabak waren in der Regel negativ.

d) Krankheitserscheinungen der Seide

Krankheitserscheinungen an Seide bei Parasitierung mauchekranker Wirte waren vor allem im Herbst, im Winter und im zeitigen Frühjahr zu beobachten. *Cuscuta campestris* und *C. gronovii* wiesen zu Beginn des Wachstums auf kranken Pflanzen deutliche Internodienverkürzungen auf. Sie waren allerdings nicht derartig ausgeprägt wie durch den starken Stamm des Gurkenmosaik-Virus. Allmählich kam es wieder zur Bildung längerer Sprosse. Die Stengel hatten oft Partien mit rauher Oberfläche, Verkrümmungen waren ebenfalls häufig. Das Verschwinden dieser Symptome setzte ein, ohne daß die Seide ihre Virusvektoreigenschaft verlor. Der Krankheitsverlauf ist ganz ähnlich am Tabak, wo es gleichfalls zu einer Erholung nach starken Schädigungen in der akuten Phase der systemischen Erkrankung kommt. Nekrosen wurden an *Cuscuta campestris* und *C. gronovii* nicht beobachtet.

Quantitative Feststellungen über das Ausmaß der Internodienverkürzung durch MV wurden an *Cuscuta campestris* ausgeführt, welche bereits längere Zeit mauchekrank war und auf *Beta vulgaris* parasitierte. Es konnte somit praktisch keine Schädigung durch neu in die Seide einströmenden Virus eintreten. An Material aus fünf kranken und einer gesunden Kolonie wurde die Länge des ältesten Internodiums der Triebe gemessen, die von Haustorialwindungen ausgingen. Achtzehn Meßwerte an gesunder Seide ergaben eine Durchschnittslänge von 5,07 cm (± 0,493), 39 Werte von kranker Seide

Abb. 15. Jungpflanzen von *Cuscuta lupuliformis*. Links: Nekrosen durch Wachstum auf mauchekrankem Samsuntabak, rechts: gesunde Pflanze auf virusfreiem Samsuntabak wachsend

durchschnittlich 2,76 cm (± 0,238). Die Differenz (2,31 cm) ist signifikant.

Deutlich nekrotisch konnte *Cuscuta lupuliformis* befallen werden (Abbildung 15.) Das Stadium der Bildung derartig schwerer Nekrosen wurde ziemlich schnell überwunden, in anderen Fällen unterblieb es gänzlich. Es setzte schwach verkrümmter Wuchs ein, bis auch dieses Symptom nicht mehr auftrat. Vergleicht man die Stengelnekrosen an Samsun mit denjenigen an *Cuscuta lupuliformis*, so ist die Ähnlichkeit ins Auge fallend. An Tabak kommt es zu Einsenkungen der Nekrosenstellen allerdings nicht so stark wie bei *Cuscuta lupuliformis*, da die Festigkeit des Tabakgewebes größer ist.

Beim Wachstum auf kranken Wirten hatten *Cuscuta europaea* und *C. epilinum* ziemlich übereinstimmende Symptome. Sie bestanden in Stauchungen und Verkrümmungen. Nekrotische Längsstreifen und Aufrauhungen an den von Haustorialwindungen frei ausgehenden Trieben wurden bei *Cuscuta europaea* häufig beobachtet. Bei *Cuscuta epilinum* traten in der Aufrauhungszone gelegentlich strichelförmige Nekrosen auf. Nach einer gewissen Wachstumszeit konnte es an beiden Arten zur Bildung zusam-

Abb. 16. Krankheitserscheinungen an Seide nach Wachstum auf mauchekranken Wirten. Links: *Cuscuta epilinum*, rechts: *Cuscuta europaea*

mengerollter Triebspitzen kommen, ohne daß ein Objekt umschlungen worden war. Die Erscheinung erinnerte stark an das Bild der Alterskrümmung bei Ranken (Abb. 16). Haustorien entstanden nach diesem Vorgang in der Regel nicht. Von solchen Krümmungen konnte *Cuscuta europaea* nahezu gerade gewachsene Triebe ausgehen lassen, die dann ebenfalls Rollungen ohne ersichtliche äußere Ursache bildeten. Bei *Cuscuta epilinum* starben die so geschädigten Spitzen besonders häufig ab.

Die rotblättrige Form von *Cuscuta subinclusa* zeigte auf mauchekranken Pflanzen oft grünliche, rauhe Stellen am Stengel, der dadurch auffällig verbreitert sein konnte (Abbildung 17). Das Gewebe war zum Teil nekrotisiert. Solche Bilder traten zuweilen auch an virusfreier rotblättriger *Cuscuta subinclusa* auf, jedoch weniger häufig. An der weißblättrigen *Cuscuta subinclusa* sowie an *C. epithymum* und *C. americana* wurden keine krankhaften Erscheinungen beobachtet, die die Einwirkung des MV vermuten ließen.

Abb. 17. Schädigungen des Stengels von *Cuscuta subinclusa*, rotblättrig, nach Wachstum auf mauchekrankem Tabak. Links: gesunder Stengel

4. Bronzeflecken-Virus der Tomate

Übertragungen des Bronzeflecken-Virus der Tomate mit den Seidearten *Cuscuta californica, C. campestris* und *C. subinclusa* erreichte Bennett (1944). Dabei erwies sich *Cuscuta campestris* als die bei weitem wirkungsvollste *Cuscuta*-Art, während die Übertragungsprozentsätze der beiden anderen immer unter 10 Prozent blieben. Sakimura (1947) hatte mit *Cuscuta sandwichiana* keine Erfolge. Hierbei konnte allerdings die begrenzte Wachstumsfähigkeit dieses Schmarotzers auf Tomaten das Haupthindernis darstellen.

Eigene Versuche wurden in größerem Maße nur mit *Cuscuta californica* angestellt. In den Wintermonaten angesetzte Übertragungen gelangen zu einem weit höheren Anteil, als ihn Bennett (1944) feststellte. Etwa ein Drittel der parasitierten Tomatenpflanzen erkrankte, wie das Symptombild und die Testungen auf *Nicotiana glutinosa* zeigten. Die Versuche wurden durch Pilzbefall stark gestört, so daß zahlenmäßige Feststellungen unterblieben. Die Zeit vom Ansetzen der Seide bis zum Auftreten der Krankheitserscheinungen variierte beträchtlich. Sie wurden frühestens nach 14 Tagen bemerkt, kamen aber in einigen Fällen erst nach drei Monaten zur Ausprägung.

In Übertragungsversuchen während des Sommers wurden dagegen keine positiven Ergebnisse erzielt.

Erstmalig wurde versucht, das Virus im Seidepreßsaft nachzuweisen. Virusfreie *Cuscuta californica* kam Mitte Oktober 1954 auf Tomaten, die Ende August infiziert worden waren. In drei Terminen von Anfang Dezember bis Anfang Januar konnten jedesmal durch Abreibung mit unverdünntem Seidepreßsaft auf *Nicotiana glutinosa* die charakteristischen großen Lokalläsionen des Bronzeflecken-Virus hervorgerufen werden, während im Preßsaft der Wirte, der chronisch kranken Tomaten, praktisch kein Virus zu finden war (Tabelle 14). Zusätzlich wurden im ersten Versuch noch fünf Tomatenpflanzen mit *Cuscuta californica*-Preßsaft und drei mit Wirtspflanzen-Preßsaft beimpft. Drei Seideabreibungen waren positiv, die mit Wirtspflanzenpreßsaft abgeriebenen Pflanzen blieben gesund.

Tabelle 14

Versuche zum Nachweis des Bronzeflecken-Virus der Tomate im Preßsaft von *Cuscuta californica* durch Abreibung auf *Nicotiana glutinosa*

Versuchsdatum	Seidepreßsaft		Wirtspflanzenpreßsaft	
	Anzahl der beimpften Blätter	Anzahl der Lokalläsionen	Anzahl der beimpften Blätter	Anzahl der Lokalläsionen
6. Dezember	34	39	18	0
16. Dezember	34	8	18	1
10. Januar	37	16	17	0

Die Befunde sprechen dafür, daß *Cuscuta californica* als Wirt des Bronzeflecken-Virus anzusehen ist. Aus längere Zeit chronisch befallenen Pflanzen ist die Rückgewinnung dieses Virus schwierig, wahrscheinlich, weil es in ihnen nur noch in geringer Konzentration vorliegt. Es dürfte die relativ große nachweisbare Virusmenge in der Seide nicht durch passive Aufahme aus dem chronisch erkrankten Wirt zu erklären sein, sondern der Schmarotzer selbst muß dem Bronzeflecken-Virus Gelegenheit zur Vermehrung gegeben haben. Makroskopisch sichtbare Symptome des Bronzeflecken-Virus wurden an der Seide nicht beobachtet.

5. Vergilbungs-Virus der Rübe

FUCHS und BEISS (1954) berichteten von erfolgreicher Übertragung des Virus der Rübenvergilbung durch *Cuscuta gronovii*. Eigene Versuche zur Übertragung dieses Virus erfolgten mit *Cuscuta campestris* im Frühjahr 1954 und 1955. Von 93 *Beta vulgaris*-Pflanzen, die mit Seidetrieben von virösen Rübenpflanzen besetzt wurden, erkrankte nur eine einzige. Die übrigen sowie die 36 Kontrollen blieben gesund. Rücktestungen wurden nicht vorgenommen. Als Virussymptom wurde die netzförmige Adernaufhellung der jüngeren

Rübenblätter bonitiert. Sie ist das „sicherste und charakteristischste" Merkmal der Erkrankung im Gewächshaus (Sedlag 1954). Von anderer Seite wird dies allerdings bestritten (Dr. Steudel, mündliche Mitteilung).

In Abwandlung der Seidepfropfungsmethode von Cochran (1947) wurden Übertragungsversuche des Rübenvergilbungs-Virus mit den beiden Formen von *Cuscuta subinclusa* vorgenommen.

Abgetrennte langstielige Blätter kranker Rüben wurden an nicht abgetrennte Blätter gesunder Pflanzen gebunden, wobei zur Vermeidung der Virusübertragung durch etwaige Verwachsungen der paarweise vereinten Stengel Staniolstreifen zwischen sie eingelegt wurden. Der abgetrennte Blattstiel tauchte an seinem unteren Ende in ein Wasserschälchen. Die Seide wurde um diese Blattstielpaare herumgeschlungen, so daß sie Windungen machte, deren Haustorien in geringer Entfernung voneinander in krankes bzw. gesundes Gewebe eindrangen. Vierzehn Tage, zum Teil auch länger, konnten solche Verbindungen aufrechterhalten werden. Da diese Methode eventuell in anderen Versuchen mit Erfolg anzuwenden ist, wird sie an Hand der Abb. 18 erläutert.

In zwei Versuchen wurden je zehn derartiger Parasitierungen mit Stengeln der rotblättrigen und der weißblättrigen Seideform angesetzt. Dabei kamen jeweils fünf Kontrollparasitierungen zur Durchführung, in denen die angebundenen Blätter von gesunden Rüben stammten. Alle 40 zur Virusübertragung parasitierten Pflanzen und die 20 Kontrollen blieben ohne Symptome.

In dreifacher Wiederholung wurde versucht, das Virus in *Cuscuta campestris* nachzuweisen. Dazu wurden von den kranken Wirtspflanzen abgetrennte Seidetriebe in einer großen Petrischale, die mit Stoffgaze überspannt worden war, mit *Myzodes persicae* besetzt. Weitere Läuse durften an den kranken Rüben saugen (Kontrollen). Nach etwa 24 Stunden kamen je zehn Läuse auf jeweils eine gesunde Rübenpflanze für die Dauer eines Tages. Insgesamt erkrankten zwei von 32 Rüben, die mit Läusen von Seide besetzt worden waren, und 16 von 27 Kontrollen.

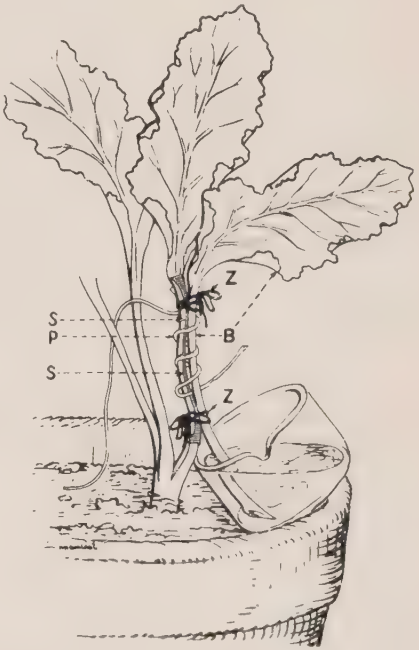


Abb. 18. Versuchsanordnung zur Übertragung des Rübenvergilbungs-Virus mit *Cuscuta subinclusa*.
B = viruskrankes Blatt; P = Sproß des Parasiten mit Haustorienbildung; S = eingelegter Staniolstreifen zwischen gesundem und krankem Blattstiel; Z = Zwirnsfaden zur Befestigung des kranken Blattstieles an der gesunden Pflanze

6. Grünscheckungsmosaik-Virus der Gurke

Das Grünscheckungsmosaik-Virus der Gurke konnte von F. Johnson (1941) mittels *Cuscuta campestris* auf etwa ein Drittel der parasitierten Pflanzen übertragen werden. Da

das Virus einen sehr beschränkten, nicht über die Familie der Cucurbitaceen hinausgehenden Wirtspflanzenkreis hat (PRICE 1940) und sich daher wahrscheinlich auch nicht in *Cuscuta* vermehren kann, wären weitere Übertragungsversuche, auch mit anderen Arten des Schmarotzers, von besonderem Interesse für die Erkenntnis des Wesens der Virusübertragung mit Seide. Derartige Untersuchungen konnten im Rahmen dieser Arbeit nicht angestellt werden.

Es wurden lediglich Abreibungen an Gurken mit Preßsaft vom Material einiger Seidearten durchgeführt, das auf infizierten Pflanzen gewachsen war. Das Virus konnte in *Cuscuta subinclusa* sowie *C. lupuliformis* mehrfach nachgewiesen werden. Nur in einem von drei Versuchen war es in *Cuscuta campestris* zu finden. Eine einmalige Testung an *Cuscuta epithymum* verlief negativ. Die Kontrollinfektionen mit Preßsaft der Wirtspflanzen der Seide gelangen stets hundertprozentig.

7. Gelbes Bohnenmosaik-Virus

Von Seideübertragungsversuchen mit dem Gelben Bohnenmosaik-Virus wurde in der Literatur bisher noch nicht berichtet. Die eigenen Experimente wurden in der Zeit von März bis Ende Juli 1955 laufend angesetzt. *Vicia faba* var. *minor* fand als kranker Wirt und als zu infizierende Pflanze Verwendung.

Niemals konnten die geprüften Seidearten das Virus übertragen (Tabelle 15). Auch Übertragungsversuche mit einem Mosaikvirus von der Ackerbohne unter Verwendung von *Cuscuta campestris* und *C. subinclusa* (weißblättrig) als Vektoren verliefen negativ. Hierbei wurde allerdings nur geringes Zahlenmaterial zusammengetragen.

Tabelle 15

Seide-Übertragungsversuche mit dem Gelben Bohnenmosaik-Virus auf *Vicia faba*

Cuscuta-Art	Anzahl der Pflanzen	
campestris	0/30[a]	(11)[b]
subinclusa, rotblättrig	0/80	(26)
subinclusa, weißblättrig	0/6	(2)
californica	0/17	(5)
epithymum	0/63	(21)
europaea	0/21	(7)
epilinum	0/9	(4)

[a] [b] siehe Tabelle 10.

Beide Viren konnten weder im Preßsaft der zu Übertragungen verwendeten noch in dem einiger anderer Seidearten festgestellt werden, obgleich zahlreiche Nachweisversuche mit jeweils zehn Ackerbohnen angesetzt wurden. Nur eine einzige Pflanze erkrankte nach Abreibung mit unverdünntem Preßsaft von *Cuscuta campestris* in einem Experiment zum Nachweis des Gelben Bohnenmosaik-Virus. Beimpfungen mit Preßsaft der kranken Seidewirte ergaben dagegen sehr hohe Infektionsraten.

8. Y- und Bukett-Virus der Kartoffel

Die Tabelle 16 weist aus, daß die geprüften Seidearten weder das Y-Virus noch das Bukett-Virus der Kartoffel übertrugen. Das negative Ergebnis mit dem Y-Virus wurde erhalten, obgleich fünf Stämme bzw. Isolierungen des Virus Verwendung fanden, Übertragungsversuche auf verschiedene Pflanzenarten erfolgten und eine Reihe von Seidearten zu verschiedenen Jahreszeiten auf ihre Vektoreigenschaften untersucht wurden. Beim Bukett-Virus wurden zwei Isolierungen, jedoch nur eine Wirtspflanze (Samsuntabak) benutzt. Die Versuche waren hauptsächlich in dem verhältnismäßig kurzen Zeitraum von Ende Mai bis Ende Juli 1955 angesetzt worden.

Tabelle 16

Seide-Übertragungsversuche mit dem Y-Virus und dem Bukett-Virus der Kartoffel

Cuscuta-Art	Y-Virus		Y-Virus		Bukett-Virus	
	Art der zu infizierenden Pflanzen					
	Nicotiana glutinosa		*Datura metel*		*Nicotiana tabacum* (Sorte Samsun)	
campestris	0/76[a]	(26)[b]	0/51	(22)	0/86	(29)
subinclusa, rotblättrig	0/59	(26)	0/37	(14)	0/52	(15)
subinclusa, weißblättrig	0/6	(3)	0/3	(1)	0/3	—
californica	0/23	(9)	0/82	(25)	0/107	(37)
gronovii					0/11	(3)
americana					0/4	(1)
epithymum	0/34	(10)	0/69	(28)	0/33	(11)
europaea	0/25	(7)			0/23	(10)
lupuliformis	0/9[c]	(2)[c]			0/11	(4)

[a] [b] siehe Tabelle 10.

[c] *Nicotiana tabacum*, Sorte Samsun, als zu infizierende Pflanze verwendet.

Im Preßsaft sämtlicher *Cuscuta*-Arten war das Bukett-Virus in jeweils mehreren Versuchen bei Abreibung auf je sechs Samsunpflanzen niemals zu finden. Beim Y-Virus lagen die Verhältnisse ähnlich. Bei ihm diente *Nicotiana glutinosa* als Testpflanze. Eine einzelne Pflanze zeigte typische Y-Symptome nach Beimpfung mit Preßsaft von rotblättriger *Cuscuta subinclusa*. Die jeweils mit Wirtspflanzenpreßsaft gleichzeitig abgeriebenen zwei bis drei Pflanzen erkrankten in jedem Fall.

9. X-Virus der Kartoffel

Im Rahmen ihrer Arbeit über Ringfleckenstämme des Kartoffel-X-Virus stellten Ladeburg, Larson und Walker (1950) Versuche mit *Cuscuta campestris* an. Ihren Angaben zufolge war es möglich, sowohl im Übertragungsversuch nach ungefähr 14 Tagen Symptome an Kartoffelsämlingen, *Nicotiana rustica* L. und *Physalis virginiana* Mill., zu beobachten, als auch positiv verlaufende Nachweise des Virus im Seidepreßsaft bei Testpflanzenabreibungen zu führen.

Eigene Übertragungsversuche mit dem X-Virus liefen fast während der ganzen Zeit, in der mit *Cuscuta* experimentiert wurde. Trotz Verwendung

zweier Stämme des Virus, von denen der eine wie das Material der genannten Autoren zur Gruppe der Ringfleckenstämme gehört, gelangen keine Seideübertragungen. Lediglich durch *Cuscuta epilinum* wurde eine von 40 Pflanzen infiziert. In den meisten Untersuchugen waren mit dem Xr-Stamm auf Samsuntabak und mit dem Xm-Stamm auf *Nicotiana glutinosa* Übertragungsversuche gemacht worden (Tabelle 17). Aber auch die Verwendung von *Nicotiana rustica*, die von LADEBURG, LARSON und WALKER als Wirtspflanze in ihren Experimenten benutzt wurde, änderte das Ergebnis ebensowenig wie eine direkte Verbindung zwischen kranken und gesunden Pflanzen durch Seidestengel.

Es ist bekannt, daß Viruskomplexe hinsichtlich ihrer Übertragbarkeit wesentlich anders als ihre Einzelkomponenten reagieren können. So ist zum Beispiel die als Rosettenkrankheit des Tabaks (rosette disease of tobacco) bezeichnete Erscheinung durch *Myzodes persicae* Sulz. zu übertragen. An ihrem Zustandekommen sind zwei Viren beteiligt, das „veindistorting"-Virus und das „mottle"-Virus. Das veindistorting-Virus ist gut läseübertragbar, mit dem mottle-Virus schlagen alle Versuche fehl, wenn der andere Partner des Viruskomplexes abwesend ist (SMITH 1946). In Analogie dazu bestand die Möglichkeit, daß das X-Virus in Gemeinschaft mit einem anderen Virus, für welches die Seide ein Vektor ist, übertragen werden könnte. Auf Grund derartiger Erwägungen wurde *Cuscuta campestris* zur Übertragung einer Mischinfektion des Gurkenmosaik- und des Kartoffel-X-Virus angesetzt. Das Ergebnis war nach serologischer Prüfung für das X-Virus negativ, während das Gurkenmosaik-Virus auch in diesem Fall seine Seideübertragbarkeit unter Beweis stellte.

Tabelle 17

Seide-Übertragungsversuche mit dem Kartoffel-X-Virus

Cuscuta-Art	Xr		Xm	
	Art der zu infizierenden Pflanzen			
	Nicotiana tabacum (Sorte Samsun)		*Nicotiana glutinosa*	
campestris	0/84[a]	(37)[b]	0/49	(24)
subinclusa, rotblättrig	0/110	(41)	0/66	(17)
subinclusa, weißblättrig	0/33	(10)	0/36	(12)
californica	0/83	(23)	0/51	(19)
gronovii	0/22	(9)	0/7[c]	(1)[c]
epithymum	0/42[d]	(12)[d]	0/67	(19)
europaea	0/34	(13)	0/17	(7)
epilinum	1/40	(16)		
lupuliformis	0/19	(6)		

[a] [b] siehe Tabelle 10.
[c] Versuche unter Verwendung von Samsuntabak als zu infizierende Pflanze.
[d] Davon 0/29 (8) unter Verwendung von *N. glutinosa* als zu infizierende Pflanze.

Zum Teil verliefen dagegen die eigenen Nachweisversuche erfolgreich. In *Cuscuta californica, C. campestris, C. subinclusa* (beide Formen) und vor allem in *C. epilinum* konnte die Anwesenheit des X-Virus durch Abreibung festgestellt werden (Tabelle 18). Xr scheint wesentlich leichter als Xm in *Cuscuta* nachweisbar zu sein. Es besteht die Möglichkeit, die Ursache dieser Differenz in der Verwendung verschiedener Testpflanzen zu suchen, für den Nachweis von Xr wurde Samsuntabak, für Xm *Nicotiana glutinosa* benutzt.

Tabelle 18

Versuche zum Nachweis des Kartoffel-X-Virus im Seidepreßsaft

Cuscuta-Art	Preßsaftverdünnung	Xr					Xm	
		Abgeriebene *Nicotiana*-Pflanzen						
		tabacum (Sorte Samsun)					*glutinosa*	
		1	2	3	4	5	1	2
campestris	unverdünnt	0/10[a]	1/10		0/5	2/10	1/6	0/10
	1/10			0/9	1/5	2/10		0/10
subinclusa, rotblättrig	unverdünnt	1/10	1/10				0/10	2/10
	1/10	4/10	1/10				0/10	0/10
subinclusa, weißblättrig	unverdünnt	3/10	1/10					
	1/10	3/10	0/10					
californica	unverdünnt	0/10	1/10				0/6	0/10
	1/10	0/10	0/10					0/10
gronovii	unverdünnt	0/6	0/10[b]					
	1/10		0/10					
epithymum	unverdünnt	0/4	0/10				0/10	
	1/10		0/10				0/10	
europaea	unverdünnt						0/6	
epilinum	unverdünnt	6/6	4/10	2/10			0/10	
	1/10		6/10	0/10			0/10	
lupuliformis	unverdünnt	0/10						
	1/10	0/10						

[a] Anzahl der infizierten bzw. beimpften Pflanzen.

[b] Nur vier der fünf mit Wirtspflanzenpreßsaft (1 : 10 verdünnt) abgeriebenen Pflanzen erkrankten. Alle übrigen Kontrollabreibungen führten stets zu hundertprozentigen Infektionserfolgen.

Wesentlicher erscheint jedoch der Umstand, daß die meisten Versuche mit Xm im Sommerhalbjahr zur Durchführung kamen, während mit Xr zu einem großen Teil im Winterhalbjahr experimentiert wurde. Tatsächlich konnte Xr während des Winterhalbjahres leichter als während des Sommerhalbjahres in der Seide aufgefunden werden. Abreibungen mit *Cuscuta epilinum*-Preßsaft zeichneten sich durch besonders hohe Infektionsraten aus. Daß die einzige gelungene Übertragung des X-Virus mit dieser Seideart erfolgte, ist daher nicht verwunderlich.

Eine Veränderung der Symptombilder der beiden X-Virusstämme konnte an Pflanzen, die mit Seidepreßsaft infiziert wurden, nicht beobachtet werden. In jedem Fall traten dieselben Erkrankungsmerkmale wie bei den zum gleichen Zeitpunkt abgeriebenen Kontrollinfektionen mit Wirtspflanzenpreßsaft auf.

10. Tabakätzmosaik-Virus

Bennett (1944) konnte beim Tabakätzmosaik-Virus (TEV) besonders gut die unterschiedliche Befähigung der Seidearten zur Virusübertragung feststellen. *Cuscuta campestris* und *C. subinclusa* vermittelten keine Infektionen, dagegen erwies sich *C. californica* als hundertprozentig erfolgreicher Vektor. In Übereinstimmung hiermit war im unverdünnten Preßsaft der beiden Nichtüberträger kein Virus aufzufinden, der Preßsaft von *C. californica* war noch bei einer Verdünnung von 1 : 1000 etwa ebenso infektiös wie der ihrer ätzmosaikkranken Wirtspflanzen.

Von diesen Befunden ausgehend, wurden in der Zeit von Mitte Dezember 1954 bis Mitte Mai 1955 zahlreiche Übertragungsversuche des starken Stammes des TEV mit *Cuscuta californica* angesetzt. Wie in den Versuchen von BENNETT war Samsuntabak sowohl die erkrankte als auch die zu infizierende Wirtspflanze. Zum Teil wurden zwischen ihnen direkte Verbindungen mit der Seide hergestellt. In allen 105 Pflanzen, auf die von kranken Wirten stammende Seide der genannten Art gesetzt worden war, ließ sich ebenso wie in den 35 Kontrollen kein TEV feststellen. Den Ergebnissen von BENNETT gemäß, vermittelten *Cuscuta campestris* und *C. subinclusa* (rotblättrig) keine Infektionen mit diesem Virus, ein gleiches gilt für *Cuscuta epithymum, C. europaea, C. epilinum, C. americana* und *C. gronovii.* Lediglich die einzige geprüfte Art der Untergattung *Monogyna, Cuscuta lupuliformis,* übertrug das Virus, und zwar nahezu in jedem Fall. Diese Seideart war auch dann ein erfolgreicher Vektor, wenn Triebe verwendet wurden, die ursprünglich von kranken Pflanzen stammten, jedoch inzwischen auf vorläufig uninfiziert gebliebenen weitergewachsen waren. Fünfzehn Tage nach Versuchsbeginn wurden die ersten Anzeichen einer Infektion beobachtet. In Tabelle 19 sind die Übertragungsversuche mit TEV zusammengefaßt wiedergegeben.

Tabelle 19

Seide-Übertragungsversuche mit dem Tabakätzmosaik-Virus auf *Nicotiana tabacum* (Sorte Samsun)

Cuscuta-Art	Anzahl der Pflanzen	
campestris	0/19[a]	(7)[b]
subinclusa, rotblättrig	0/12	(4)
californica	0/105	(35)
gronovii	0/3	(1)
americana	0/6	(2)
epithymum[c]	0/45[c]	(11)[c]
europaea	0/49	(18)
epilinum	0/5	(2)
lupuliformis	29/31	(6)

[a] [b] siehe Tabelle 10.
[c] Davon 0/35 (9) unter Verwendung von *Nicotiana glutinosa* als zu infizierende Pflanze.

Nachweisversuche verliefen ebenfalls nicht ganz so, wie nach den Angaben von BENNETT zu erwarten war. Im unverdünnten Preßsaft von *Cuscuta californica* war keineswegs regelmäßig das TEV aufzufinden, und nur ein Teil der Pflanzen erkrankte in positiv verlaufenden Versuchen. Nachweisversuche an *Cuscuta campestris, C. gronovii, C. americana, C. epithymum* und *C. europaea* ergaben keinen Virusgehalt. Interessanterweise war es in einem Fall möglich, mit Preßsaft der rotblättrigen *Cuscuta subinclusa* TEV-Infektionen zu verursachen, mit *Cuscuta epilinum*-Preßsaft kam ebenfalls eine Erkrankung zustande. Kontrollabreibungen, die zu jedem Versuch parallel mit Material der virösen Seidewirtspflanze auf zwei bis drei jungen Samsun durchgeführt wurden, ergaben in jedem Fall 100%igen Infektionserfolg. Im unverdünnten Preßsaft von *Cuscuta lupuliformis* war die Virusaktivität nicht sehr hoch. In zwei Verdünnungsversuchen bewirkte das TEV bei der Konzentration $1 \cdot 10^{-1}$ hohe Infektionsraten und rief auch bei $1 \cdot 10^{-2}$ noch vereinzelt Erkrankungen hervor. In den höheren Verdünnungsstufen waren allerdings keine positiven Ergebnisse mehr zu erreichen.

Es wurde vermutet, daß mittels verschiedener Seidearten eine selektive Trennung von Gemischen des TEV und des Tabakmauche-Virus zu bewerkstelligen sein könnte. Die Verwendung von *Cuscuta lupuliformis* war dabei nicht möglich, weil sie beide Viren übertrug. Im Gegensatz dazu erschienen *Cuscuta campestris* und *C. californica* als eventuelle Differentialvektoren geeignet. Die erstere hatte sich als Vektor und Wirt des MV bewährt, enthielt und übertrug jedoch TEV nie. Die letztere zeigte keine Affinität zum MV, enthielt aber TEV häufig und war in Gegenwart des MV vielleicht sogar zu seiner Übertragung befähigt.

Von mischinfizierten Samsunpflanzen aus übertrug *Cuscuta campestris* das MV, nicht dagegen das TEV. *Cuscuta californica* vermittelte mit keinem von beiden Infektionen. Abreibungen mit Seidepreßsaft verliefen erfolgreicher. In *Cuscuta campestris* fand sich regelmäßig nur MV. In *Cuscuta californica* war dieses Virus niemals nachweisbar, während eines Versuches konnte dagegen TEV aus ihr gewonnen werden.

Cuscuta lupuliformis enthielt TEV noch, wenn sie 14 Tage lang auf *Beta vulgaris* parasitiert hatte. Der Schmarotzer war allerdings auf diesem nach Holmes (1946) TEV-immunen Wirt nur gering gewachsen.

11. Tabakmosaik-Virus

a) Übertragungs- und Nachweisversuche

Die Seideübertragbarkeit des Tabakmosaik-Virus (TMV) wird in der Literatur nicht einheitlich beurteilt. Bennett (1944) erhielt nur sehr geringe Übertragungsprozentsätze mit *Cuscuta campestris* und *C. subinclusa*, während *C. californica* überhaupt keine Infektionen vermittelte. Von den wenigen aufgetretenen Erkrankungsfällen nahm er obendrein an, daß sie auf unvermeidbaren Spontaninfektionen beruhten. Abreibungen des Preßsaftes von Exemplaren der Seidearten, die auf TMV-krankem Tabak gewachsen waren, verursachten nur selten und höchstens einige wenige Läsionen auf *Nicotiana glutinosa*. Demgegenüber hatte F. Johnson (1941) mit *Cuscuta campestris* einen fünfzigprozentigen Übertragungserfolg. Costa (1944) wiederholte seine Versuche mit exakterer Methodik und erreichte ebenfalls Übertragungen. Er arbeitete mit verschiedenen TMV-Stämmen, einem typischen und einem Aucuba-Stamm. Die Infektionsprozentsätze lagen allerdings wesentlich unter den von Johnson gefundenen Werten. Gualaccini (1952) konnte innerhalb von 45 Tagen nach Ansetzen von *Cuscuta pentagona* Engelm.[1]) zur TMV-Übertragung Symptome an Tabakpflanzen beobachten. Miyakawa und Yoshii (1951) übertrugen das Virus auf elf von 54 Tabakpflanzen mit Hilfe von *Cuscuta japonica* Choisy. Schließlich sind noch die Versuche von Cochran (1946) zu erwähnen, der bei direkter Verbindung kohlehydratarmer virusfreier und voll assimilierender viruskranker Pflanzen durch *Cuscuta campestris* bei Entfernung aller Seide-Vegetationspunkte 75 Prozent und mehr Infektionen erzielte, während ohne „Aushungerung" der zu infizierenden Pflanzen und ohne Beseitigung der Vegetationspunkte von *Cuscuta* keine Übertragungen stattfanden.

Nach den ersten, im Hochsommer 1952 durchgeführten Versuchen mit *Cuscuta campestris* teilte ich den Standpunkt von Bennett (1944). Verschiedene Übertragungsversuche mit dem Gelbstamm des TMV von Samsuntabak auf Samsuntabak waren erfolglos geblieben, ebenso ließ sich im unverdünnten Seidepreßsaft so gut wie kein Virus bei Abreibung auf *Nicotiana glutinosa* nachweisen. Als im September 1953 die Wiederaufnahme der Untersuchungen erfolgte, ergab sich das gleiche bei Versuchen, die bis Anfang November angesetzt wurden.

[1]) Yuncker (1932) nahm eine Aufteilung der genannten *Cuscuta*-Art vor. Wahrscheinlich dürfte dem Autor *Cuscuta campestris* Yunck. vorgelegen haben.

Ein Ende November durchgeführter Nachweisversuch brachte im Vergleich zu den vorherigen Befunden die geradezu unwahrscheinlich hohe Zahl von 116 Läsionen auf 25 mit unverdünntem *Cuscuta campestris*-Preßsaft abgeriebenen *Nicotiana glutinosa*-Blättern. Die Maximalzahl betrug 16 Läsionen auf einem Blatt. Auch bei zehnfacher Verdünnung des Preßsaftes mit neutralem Phosphatpuffer ergab sich noch eine beträchtliche Zahl von Infektionsstellen, sowohl auf *Nicotiana glutinosa* als auch auf *N. sylvestris*. Anfang Januar 1954 wurde ein weiterer Nachweisversuch mit einem Gelbstamm und einem Grünstamm angestellt. Die Läsionszahlen für den Grünstamm waren gering, für den Gelbstamm wurde dagegen eine noch höhere Menge aktiven Virus als Ende November in der Seide nachgewiesen. Besonders auffällig war die hohe Infektiosität des zehnfach verdünnten Preßsaftes.

Auf Grund des festgestellten hohen Virusgehaltes der Seide wurde erwartet, daß die gleichzeitig begonnenen Übertragungsversuche erfolgreich verlaufen würden. Tatsächlich war dies der Fall. Mit beiden Virusstämmen vermittelte die Seide zu beträchtlichen Prozentsätzen Infektionen. Gleichzeitig angesetzte Kontrollen blieben gesund. Testungen auf *Nicotiana sylvestris* ergaben, daß die erkrankten Pflanzen jeweils durch den „richtigen" Virusstamm infiziert worden waren, obgleich die Gelbstamm bzw. Grünstamm-Übertragungen unmittelbar nebeneinander standen. Spontaninfektionen können daher als etwaige Ursache mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden.

In Versuchen, die nach Mitte Februar anliefen, waren keine Übertragungen des TMV mehr zu erzielen. Dementsprechend sank auch die in *Cuscuta campestris* nachweisbare Virusmenge. In einem Anfang September 1954 beginnenden Übertragungsversuch erkrankte eine Pflanze. Mit dieser Ausnahme traten aber wie in den vergangenen Jahren während des Sommers keine Übertragungen auf, und genau so blieben die Nachweisversuche relativ erfolglos.

Es war zu vermuten, daß die geringe Lichtintensität während des Winters den wesentlichsten Grund für den hohen TMV-Gehalt der Seide darstellte. Um ähnliche Lichtverhältnisse wie im Winter zu schaffen, wurden kranke, mit Seide besetzte Tabakpflanzen unter den Tabletten aufgestellt. Die Schmarotzertriebe kamen in einigen orientierenden Übertragungsversuchen und einem Nachweisversuch im Vergleich mit solchen, die normalen sommerlichen Bedingungen ausgesetzt worden waren, zur Verwendung. Diese Vorbehandlung bewirkte keine Verbesserung der Resultate.

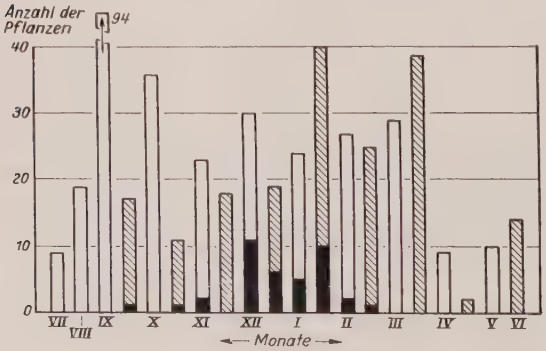


Abb. 19. Übertragbarkeit des Tabakmosaik-Virus auf *Nicotiana tabacum* (Sorte Samsun) mit *Cuscuta campestris* während verschiedener Jahreszeiten.

- Parasitierungen mit Seide zur Übertragung des Gelbstammes,
- Parasitierungen mit Seide zur Übertragung des Grünstammes,
- Anteil der gelungenen Übertragungen

Im nächsten Winter wurden wieder relativ viele Läsionen bei Nachweisen und eine Reihe positiver Fälle bei Übertragungen erzielt. Ganz so hoch wie im Jahr zuvor lagen die Werte jedoch meist nicht. In Abbildung 19 bzw. Tabelle 20 sind die erzielten Ergebnisse aller Übertragungs- und der Nachweisversuche mit dem Gelbstamm nach Monaten geordnet zusammengefaßt dargestellt. Aus den Zahlen geht deutlich eine jahreszeitlich verschiedene Fähigkeit zur TMV-Aufnahme und -Abgabe bei *Cuscuta campestris* hervor. Viel Virus war im allgemeinen von November bis Februar in der Seide nachweisbar. Dementsprechend konnten fast ausschließlich in dieser Zeit Infektionen durch den Schmarotzer vermittelt werden, während in den übrigen Monaten des Jahres weder große Virusmengen zu finden waren noch nennenswerte Übertragungen stattfanden.

Tabelle 20

Nachweis des Tabakmosaik-Virus (Gelbstamm) im Preßsaft von *Cuscuta campestris* während verschiedener Jahreszeiten

Monat	Preßsaftverdünnung	
	unverdünnt	1/10
Juli	4[a]	
	3	
September	0	
	7	10
	2	7
Oktober	2	2
	1	1
November	116	24
	25	12
	227	119
Dezember	65	78
Januar	597	939
	37	108
Februar	20	5
März	3	9
	4	2
Mai	5	1
	13	3

a) Anzahl der Lokalläsionen nach Abreibung von je 50 Blatthälften von *Nicotiana glutinosa*.

Im ganzen gesehen waren die Ergebnisse mit den Stämmen des TMV gleichartig, es kann kaum von Unterschieden bei der Verwendung der auf *Nicotiana sylvestris* nekrotisch bzw. systemisch sich manifestierenden Formen gesprochen werden, wenn auch gelegentlich die eine oder andere von ihnen eine größere Zahl von Infektionsstellen im Nachweisversuch bildete oder häufiger übertragen wurde.

Während des Winters 1953/54 wurde versucht, TMV-Läsionen durch eindringende Haustorien von *Cuscuta campestris* auf *Nicotiana glutinosa* hervorzurufen. Von zwölf mit „TMV-Seide" besetzten Pflanzen zeigte keine Nekrosen. Ebensowenig war eine Infektion an einigen *Nicotiana sylvestris*-Pflanzen durch die gleiche Seideart mit dem Grün- oder dem Gelbstamm möglich.

Mit den anderen Seidearten wurde im Vergleich zu *Cuscuta campestris* nur wenig experimentiert. Daher kamen jahreszeitliche Effekte nicht oder kaum zum Ausdruck. Nach meiner Ansicht ist es auf Grund der erhaltenen Ergebnisse der Übertragungsversuche (Tab. 21) nicht möglich, die eine oder andere Seideart als besseren oder schlechteren Vektor des TMV zu bezeichnen. Auch die Nachweisversuche der Tabelle 22 geben zur Differenzierung kaum Berechtigung. Sie sollen lediglich zeigen, in welchen Größenordnungen die Läsionszahlen liegen können.

Tabelle 21

Seide-Übertragungsversuche mit dem Tabakmosaik-Virus auf *Nicotiana tabacum* (Sorte Samsun)

Cuscuta-Art	Gelbstamm	Grünstamm
subinclusa, rotblättrig	1/67[a] (14)[b]	3/27 (5)
subinclusa, weißblättrig	0/37 (9)	0/12 (3)
californica	0/45 (15)	0/32 (14)
gronovii	0/2 (1)	
epithymum	0/14 (4)	1/30 (10)
europaea	0/19 (7)	0/21 (5)
epilinum	2/18 (9)	2/6 —
lupuliformis	0/2 (1)	0/2 (1)

[a] [b] siehe Tabelle 10.

Die für *Cuscuta subinclusa*, weißblättrig, erhaltene Zahl der Infektionsstellen ist zwar viel höher als die für die meisten anderen Seidearten und auch höher als für die rotblättrige Form, jedoch konnten die Nachweisversuche nicht zu einem einheitlichen Termin durchgeführt werden. Hinzu kommt, daß nur der letztere der beiden Klone von *Cuscuta subinclusa* in Übertragungsversuchen positive Ergebnisse erzielt hatte. *Cuscuta epilinum* macht allerdings eine Ausnahme und unterscheidet sich wohl tatsächlich von den anderen Arten im Gehalt an nachweisbarem Virus. Bestätigung dafür, daß ihre Werte nach Tabelle 22 nicht zufällig so hoch lagen, ergaben weitere Versuche (Tab. 23). Auch der gewöhnliche Grünstamm des TMV konnte in ihr nach Wachstum auf entsprechend verseuchten Wirten in großer Menge gefunden werden.

Tabelle 22

Versuche zum Nachweis des Tabakmosaik-Virus (Gelbstamm) im Seidepreßsaft

Cuscuta-Art	Versuchsdatum	Preßsaftverdünnung	
		unverdünnt	1/10
subinclusa, rotblättrig	22. 6. 1955	63[a]	21
subinclusa, weißblättrig	22. 1. 1955	282	111
californica	5. 7. 1954	0	1
	31. 1. 1955	68	34
epithymum	11. 2. 1954	0	1
	13. 5. 1954	3	1
europaea	21. 8. 1954	53	23
epilinum	13. 5. 1954	414	539
	10. 2. 1955	223	204
lupuliformis	14. 7. 1955	9	16

[a] Anzahl der Lokalläsionen nach Abreibung von je 50 Blatthälften von *Nicotiana glutinosa*.

b) Versuche über die Beziehungen zwischen Seide und Virus

Für *Cuscuta campestris, C. californica* und *C. subinclusa* ist nachgewiesen bzw. wahrscheinlich gemacht worden, daß in ihnen das TMV nach Wachstum auf immunen Wirten nicht mehr aufzufinden ist (F. Johnson 1941, Costa 1944, Bennett 1944). Das gleiche dürfte für die meisten der hier erstmalig als TMV-Vektoren geprüften Seidearten zutreffen.

Die sehr hohe in *Cuscuta epilinum* nachweisbare TMV-Menge ließ eine unbegrenzte Vermehrbarkeit dieses Virus im Schmarotzer möglich erscheinen. Sprosse der Leinseide von gelbstammkranken Wirten wurden daher auf *Vicia faba* gesetzt, die nach Holmes (1946) TMV-immun ist. In zwei Abreibungen erwies sich *Cuscuta epilinum* nach einem Wachstum von 20 bzw. 35 Tagen auf diesem Wirt als völlig virusfrei. Keine Läsionen entstanden auf jeweils 25 mit unverdünntem Seidematerial beimpften *Nicotiana glutinosa*-Blättern.

Bennett (1944) diskutierte die Möglichkeit, daß die Seidearten die Fähigkeit hätten, mit dem Nahrungsstrom eingeschleuste Viren in vivo schnell zu inaktivieren, wenn sie selbst kein Wirt dieser Viren darstellen.

In eigenen Untersuchungen wurde geprüft, ob sich das TMV ohne erkennbaren Aktivitätsverlust mehrere Tage in verschiedenen *Cuscuta*-Arten halten kann. Dazu war es nötig, der Seide sowohl die Zufuhr neuen Virus als auch neuer Nahrungsstoffe abzuschneiden, da durch Wachstum auf virusfreien Wirten ein Verdünnungseffekt eine Virusinaktivierung vortäuschen konnte. Es mußte dafür in Kauf genommen werden, daß unter Umständen die Stoffwechselvorgänge in der isolierten Seide langsamer als normalerweise vonstatten gingen und auch der Prozeß der Inaktivierung vielleicht verzögert wurde.

Abgetrennte Seidesprosse von TMV-kranken Wirten kamen nach gründlichem Abspülen in große, mit feuchtem Filtrierpapier ausgeschlagene Petrischalen. Diese standen auf dem Tablett im Gewächshaus neben den Pflanzen, von denen die Triebe stammten und an denen noch weiteres Material wuchs. Nach Verlauf mehrerer Tage wurden aufbewahrte und an der Pflanze belassene Triebe im Mörser zerkleinert. Mit dem unverdünnten Material erfolgten Abreibungen nach der Blatthälftenmethode, so daß beide Versuchsglieder auf den gleichen Blättern ausgetestet wurden. Meist rief das aufbewahrte Material mehr Läsionen als das ständig im Zusammenhang mit der Wirtspflanze gebliebene hervor (Tab. 23). Es ergab sich somit kein Anhaltspunkt für eine schnelle Inaktivierung des TMV in der lebenden Seide.

Daß die Seidearten zum größten Teil Infektionshemmstoffe in sich tragen, die aber sicherlich nur nach Zerstörung der Pflanze mit dem Virus in Berührung kommen, kann in solchen Versuchen eine unerwünschte Begleiterscheinung sein, wenn etwa das aufbewahrte Seidematerial weniger starke Hemmpotenz als das frische aufweist. In einem Versuch mit *Cuscuta campestris* hatte jedoch im Gegenteil aufbewahrtes Material mehr Hemmkraft

als frisches. Es ist daher nicht anzunehmen, daß schwächere Hemmwirkung eine Inaktivierung im Endeffekt kompensierte.

Tabelle 23

Nachweis des Tabakmosaik-Virus in aufbewahrten Seidesprossen

Versuchsbeginn	*Cuscuta*-Art	Virusstamm	Art des Materials	Aufbewahrung in Tagen			
				5	9	12	15
10. 2.	*campestris*	Gelb	aufbewahrt	9[a]		18	
			frisch	10		3	
10. 2.	*campestris*	Grün	aufbewahrt	12		22	
			frisch	7		6	
10. 3.	*epilinum*	Gelb	aufbewahrt		411		1213
			frisch		4		427
10. 3.	*europaea*	Gelb	aufbewahrt		5		30
			frisch		5		1
10. 3.	*europaea*	Grün	aufbewahrt		7		26
			frisch		7		3
30. 3.	*subinclusa*, rotblättrig	Grün	aufbewahrt			50	
			frisch			38	
19. 4.	*epilinum*	Gelb	aufbewahrt		1442		1495
			frisch		435		1037

[a] Anzahl der Lokalläsionen auf 50 Blatthälften von *Nicotiana glutinosa*.

Es erscheint von einigem Interesse, festzustellen, ob der Virusgehalt in den Spitzen- und Basisteilen der Seidetriebe von TMV-kranken Wirten verschieden ist. Zur Untersuchung dieser Frage konnten nur orientierende Experimente angestellt werden. Auf gelbstammkrankem Samsuntabak im Winter gewachsene Triebe von *Cuscuta campestris* wurden mit sterilem Skalpell in Stücke von etwa 10 mg zerteilt und unter Hinzufügen von 0,1 ml neutralem Phosphatpuffer in einseitig geschlossenen Glasröhrchen von 4 cm Länge und 0,9 cm Durchmesser mit Hilfe eines Glasstäbchens einzeln zerrieben. Anschließend erfolgten Abreibungen mit diesem Material auf Lokalläsionen bildenden *Nicotiana*-Arten. Das Spitzenmaterial erzeugte stets ebenfalls Lokalläsionen, wenn sich das Basismaterial als virushaltig erwies. Klare Unterschiede im Virusgehalt konnten auf Grund der Versuche nicht ermittelt werden.

c) Abänderung des Symptombildes nach Seidepassage

Symptombildabänderungen des TMV-Grünstammes wurden nach Passage durch Seide nicht beobachtet. Ein Teil der Samsunpflanzen, auf die der Aschersleben er Gelbstamm übertragen worden war, wies dagegen veränderte Krankheitserscheinungenn auf. Statt der üblichen Gelbscheckung, die allerdings im Winter häufig durch eine starke Grünscheckung ersetzt wurde, trat anfänglich eine Aufhellung der Blattspreite ein. Nur schmale Bezirke längs der Adern behielten ihre dunkelgrüne Farbe, so daß eine Adernbänderung resultierte (Abb. 20). Sodann kam es nur zu einem sehr schwachen Grünmosaik

ohne die sonst üblichen Blattdeformationen. Das Wachstum der Pflanzen war kaum gehemmt. Obgleich also zahlreiche Aucuba-Merkmale verlorengingen, blieb eine wichtige Eigenschaft erhalten, nämlich die Fähigkeit, auf *Nicotiana sylvestris* nekrotische Lokalläsionen hervorzurufen.

Pflanzen mit derartig abgeänderten Symptomen traten erstmalig nach einer Abreibung mit Preßsaft von *Cuscuta campestris*, die auf krankem Samsuntabak mit normalen Gelbstammsymptomen gewachsen war, im Oktober 1953 in Erscheinung. Von einer dieser Pflanzen wurde die abweichende Isolierung 22 Monate auf Samsun weitergehalten, wobei sie insgesamt dreizehnmal auf junge Pflanzen im Vergleich mit anderen TMV-Stämmen übergeimpft wurde. Niemals verleugnete sie ihren von der Ausgangsform abweichenden Charakter, und in keinem Fall bildete sie gelbe Flecke. Bei der dreizehnten Überimpfung wurden gleichzeitig Infektionen mit Trockenmaterial aller Stämme von den Ausgangspflanzen des Versuches durchgeführt. Es zeigte sich, daß zwischen den Symptombildern der Trocken- und der Frischmaterialabreibungen kein Unterschied bestand. Die Isolierung aus der Seidepassage hatte also ebenso wie die übrigen Stämme in der Zwischenzeit keine Veränderung erfahren, die sich symptomatologisch bemerkbar machte.

Abb. 20. Adernbänderung an Samsuntabak durch die Variante des Gelbstammes des Tabakmosaik-Virus (Durchlichtaufnahme)

Es galt die wichtige Frage zu klären, ob diese Symptomabweichung von einer „Mutation" des Virus herrührte, die durch die Seidepassage induziert wurde, oder ob das Ausgangsmaterial des TMV von vornherein ein Gemisch darstellte. Zu diesem Zweck wurde in zwei Versuchen stark verdünnter Preßsaft von Pflanzen, die mit dem Aschersiebener Gelbstamm infiziert worden waren, auf Samsunpflanzen abgerieben. Es traten auch hier Pflanzen mit den erwähnten Symptomabänderungen auf. Auf Grund dieses Befundes ist anzunehmen, daß die Seide eine Trennung uneinheitlichen Virusmaterials vornehmen kann, wenn sie nur Partikeln einer Variante auf einen Wirt überträgt.

C. Diskussion

In Tabelle 24 sind die Ergebnisse der Übertragungsversuche mit neun Seidearten und neun Viren zusammengefaßt dargestellt. Verschiedene Viren

ließen sich durch keine Seideart übertragen, im Gegensatz dazu konnten bei anderen Übertragungserfolge erzielt werden.

Beim Gurkenmosaik-, Tabakmauche-, Luzernemosaik- und Tabakätzmosaik-Virus wurden einige Seidearten als gute Vektoren befunden, während andere deutlich schlechter oder gar nicht zur Übertragung befähigt waren. Schon innerhalb der Subgenera treten diese Differenzierungen der *Cuscuta*-Arten auf, wie bei den Viren des Luzernemosaiks und der Tabakmauche festgestellt wurde. *Cuscuta epithymum* aus der Untergattung *Cuscuta* und *C. californica* aus der Untergattung *Grammica* erwiesen sich als Nichtüberträger beider Viren, dagegen war eine ganze Reihe anderer Arten der gleichen Subgenera als Vektoren dieser Viren brauchbar.

Unterschiedliche Vektoreigenschaften gibt es sogar bei verschiedenen Formen der gleichen Seideart, wie beim Tabakmauche-Virus zu ersehen war. Dieses Virus wird von der rotblättrigen Form der *Cuscuta subinclusa* häufig, von der weißblättrigen sehr selten übertragen. Daraus ergibt sich eine Erklärungsmöglichkeit für den Befund von VAN DER WANT (1955), der im Gegensatz zum Verfasser das Tabakmauche-Virus nicht durch *Cuscuta subinclusa* übertragen konnte. VAN DER WANT stand vielleicht nur eine schlecht übertragende Form der Seideart zur Verfügung.

„Aktive" und „inaktive" Gruppen sind bei tierischen Vektorarten eine bekannte Erscheinung. So konnte *Cicadulina mbila* (Naude) von STOREY (1932) in zwei Stämmen gezüchtet werden, die sich deutlich in ihrer Befähigung zur Übertragung der Maisstrichel-Virus unterschieden. Neuerdings fand STUBBS (1955) bei *Myzodes persicae* Sulz. ähnliche Verhältnisse in bezug auf die Übertragbarkeit eines persistenten Spinatvirus. Er nimmt an, daß es inaktive Insekten weit häufiger in Vektorarten gibt, als gegenwärtig bekannt ist.

Die Verwendung verschiedener Virusstämme kann das Ergebnis der Versuche mit Seide modifizieren, wie das Beispiel des Gurkenmosaik-Virus lehrte.

Tabelle 24 Übertragbarkeit verschiedener Viren

Cuscuta-Art	Gurken-mosaik-Virus	Luzerne-mosaik-Virus	Tabak-mauche-Virus
campestris	+++	++	+++
gronovii	(+++)	—	+++
subinclusa, rotblättrig	+++	++	++
subinclusa, weißblättrig	+++	++	+
californica	+++	—	—
americana	(+++)	·	(—)
europaea	+++	+++	++
epithymum	+++	—	—
epilinum	·	+++	(+++)
lupuliformis	+	(++)	+++

Zeichenerklärung: +++ meist oder fast immer, ++ häufig, + selten, — keine Über-

Cuscuta californica und *C. europaea* übertrugen den gewöhnlichen Grünstamm fast immer, den Gelbstamm jedoch nur in einem Bruchteil der Fälle.

Die Diskrepanzen zwischen den Ergebnissen von Bennett (1944) und den hier mitgeteilten hinsichtlich der Übertragbarkeit des Tabakätzmosaik-Virus durch *Cuscuta californica* sind um so bemerkenswerter, da das gleiche Seidematerial verwendet wurde. In Analogie zu den Verhältnissen bei der Übertragung des Tabakmauche-Virus mit *Cuscuta subinclusa* könnte an das Vorhandensein zur Übertragung des Virus unterschiedlich befähigter Formen von *Cuscuta californica* in ein und derselben Herkunft gedacht werden oder, wie beim Gurkenmosaik-Virus, an verschieden leicht übertragbare Virusstämme. Möglicherweise liegen noch andere Ursachen vor. Die Klärung dieser Frage muß späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben. Auch die gegensätzlichen Befunde beim Kartoffel-X-Virus und *Cuscuta campestris* zwischen Ladeburg, Larson und Walker (1950) und der hier geschilderten Arbeit bedürfen noch entsprechender Untersuchung.

Zahlreiche Beispiele für jahreszeitlich bedingte Effekte auf nachweisbaren Virusgehalt und Virusübertragungsfähigkeit der Seidearten sind in dieser Arbeit beschrieben worden. Das Phänomen des Jahreszeiteneinflusses auf virologische Probleme ist bei den verschiedensten Fragestellungen immer wieder zu beobachten und müßte in Zukunft stärker verfolgt werden. Die jahreszeitlich unterschiedliche Reaktion von *Phaseolus vulgaris* auf das Gurkenmosaik-Virus (Bawden 1950) unterstreicht diese Forderung.

Die Tatsache, daß *Cuscuta campestris* während der Sommermonate das Tabakmosaik-Virus nicht oder nur selten übertrug, während im Winter ziemlich häufig Übertragungen gelangen, gibt eine Grundlage zur Erklärung der

mit *Cuscuta*-Arten *Tabelle 24*

Gelbes Bohnenmosaik-Virus	Kartoffelbukett-Virus	Kartoffel-Y-Virus	Kartoffel-X-Virus	Tabakätzmosaik-Virus	Tabakmosaik-Virus
—	—	–	·	·	·
·	—	·	—	(—)	(—)
—	—	—	—	·	·
(—)	(—)	(—)	—	·	—
·	–	—	·	·	·
·	(—)	·	·	(—)	·
·	·	– –	·	·	·
·	·	·	–	·	·
(—)	·	·	+	(—)	·
·	·	(—)	—	+++	(—)

tragung, · nicht geprüft. Eingeklammerte Befunde sind an weniger als 10 Pflanzen gewonnen.

unterschiedlichen Angaben über diesen Punkt bei BENNETT (1944) einerseits und F. JOHNSON (1941) und COSTA (1944) andererseits.

Gründe für die im Winter erleichterte Seideübertragung von Viren könnten einmal darin gesucht werden, daß der Virusgehalt der Wirtspflanzen während dieser Zeit häufig höher als im Sommer ist (z. B. SCHRAMM 1952) und daher auch die Seide mehr Virus aufnimmt. Zum anderen ist nicht ausgeschlossen, daß die Einwanderung von Viren in den Schmarotzer während der Wintermonate überhaupt leichter vonstatten geht. Auch der zartere Bau der Wirtspflanzen während der lichtarmen Jahreszeit ist unter Umständen nicht ohne Einfluß.

Mit Absicht wurde in den meisten Fällen darauf verzichtet, durch parallel angestellte Abreibungsversuche mit Preßsaft den Virusgehalt der Seidearten vergleichend quantitativ festzustellen. Es wurde nur die Tatsache ermittelt, daß diese oder jene Seideart das betreffende Virus enthält oder nicht. Wie gezeigt werden konnte (SCHMELZER 1956), erwiesen sich die Seidearten zum größten Teil als hemmstoffhaltig, wobei deutliche Abstufungen zu verzeichnen waren. Es hätte Abreibungen in mehr oder weniger ausgedehnten Verdünnungsreihen bedurft, um exakte quantitative Aussagen über den Virusgehalt machen zu können. Solche Versuche hätten den Rahmen des Möglichen überschritten.

Die von COSTA (1944) erstmalig festgestellte Bildung von Stengelnekrosen nach Parasitierung mit gurkenmosaikvirushaltiger Seide an Wirten, die mit Lokalläsionen auf Abreibung mit diesem Virus reagieren, erwies sich als eine Erscheinung, die von vielen Viren hervorgerufen werden kann. Voraussetzung ist nur, daß die Seide ein genügend wirkungsvoller Vektor des Virus ist und sich auf Pflanzen ansiedeln kann, welche ihrerseits durch deutlich ausgeprägte lokale Nekrosen auf das betreffende Virus antworten. Eigenartigerweise war in den untersuchten Fällen nicht das Phloem bevorzugt geschädigt, zu dessen Aufsuchung ja die Seide ihre Haustorien in den Wirtsstengel treibt, vielmehr wurden die Gewebselemente peripher zu den Leitbündeln nekrotisiert, die im ausdifferenzierten Zustand Sklerenchymstränge darstellen. Diese Tatsache ist wohl wert, eingehender verfolgt zu werden.

Die Seidearten haben auf Grund ihres stark spezialisierten Baues nur sehr begrenzte Möglichkeiten zur spezifischen Reaktion auf Virusschädigungen. Dennoch beantwortete z. B. *Cuscuta campestris* den Befall durch den gewöhnlichen und den starken Grünstamm des Gurkenmosaik-Virus recht unterschiedlich. Im Falle des Tabakmauche-Virus zeigten einige Schmarotzerarten andere Symptome als die übrigen: *Cuscuta campestris* und *C. gronovii* bildeten keine Nekrosen aus, die dagegen insbesondere bei *C. lupuliformis* auftraten.

Symptomabänderungen von Viren infolge einer Passage durch Seide wurden im allgemeinen nicht gefunden. Beim Tabakmosaik-Virus traten sie in einer Anzahl von Fällen auf. Die Erscheinung war nicht als Modifikation aufzufassen, da sich die Symptombilder über mehrere Abimpfungen hinweg als konstant bleibend erwiesen. Zur Erklärung ist ein durch den Schmarotzer ausgelöster Trennungseffekt anzunehmen. Nach Ansicht des Verfassers hat

die Seide kein Selektionsvermögen besessen, sondern lediglich die eine oder andere Variante übertragen.

Nach der von KÖHLER immer wieder (z. B. 1954 a u. b) vertretenen Auffassung ist zum Zustandekommen einer Prämunitätswirkung die Verimpfung des nachfolgenden Virus in parenchymatische Gewebe erforderlich. Es ist daher nicht verwunderlich, daß gurkenmosaikkranke Seide beim Wachstum auf entsprechend verseuchten Wirten nicht vor einer Zweitinfektion mit einem anderen Stamm des gleichen Virus geschützt blieb.

Es erhebt sich die Frage, warum mit manchen Viren Seideübertragungen möglich sind, mit anderen jedoch nicht, und ob es Erklärungsmöglichkeiten für die Höhe der erzielten Prozentsätze gibt. Weiterhin interessiert, warum manche Seidearten bei bestimmten Viren versagen, während doch andere Arten gute Vektoren der gleichen Viren darstellen.

BENNETT (1944) hat zu diesen Problemen eine theoretische Deutung gegeben. Er stützte sich dabei auf eine frühere Arbeit, die sich mit den Beziehungen von Viren zu Pflanzengeweben befaßt (BENNETT 1940 b). Nach seiner Ansicht sind die Beziehungen der Viren zu den verschiedenen Gewebearten des Wirtes und der Seide ausschlaggebend für die Übertragbarkeit. Es wird dabei zwischen den Viren des Vergilbungs- und des Mosaiktyps unterschieden. Die ersteren werden als auf das Phloem begrenzt angesehen und rufen dementsprechend dort Schädigungen hervor, ohne daß es zur Bildung von Scheckungen, Ringflecken, Lokalläsionen und anderen Anzeichen eines direkten Parenchymbefalles kommt. Die letzteren sollen im Gegensatz dazu hauptsächlich im parenchymatischen Gewebe vorkommen und in ihm die genannten Symptome verursachen. Die Viren des Vergilbungstyps erreichen im Phloem ihrer Wirte wahrscheinlich relativ hohe Konzentrationen. Anzeichen sprechen dafür, daß die Vertreter des Mosaiktyps im Phloem in geringerer Menge, verglichen mit der im Parenchym, zu finden sind.

Nach der von BENNETT im Sinne der Druckstromtheorie entwickelten Anschauung ist die Einwanderung von Viren auf dem Phloemweg ein Vorgang, der sich im Rahmen der Nahrungsaufnahme aus dem Wirt abspielt, wobei der Stoffübertritt vom Wirt in den Parasiten wahllos erfolgt. Die Viruskonzentration im Phloem der Seide wird als ursprünglich ebenso hoch, ja noch höher als die im Phloem des Wirtes angenommen. Inaktivierungsvorgänge in vivo, die im Phloem vor allem an den Viren des Mosaiktyps angreifen, werden weiterhin in Betracht gezogen. Es kommt nach BENNETT nicht oder nur in sehr geringen Prozentsätzen zu Übertragungen von Viren des Mosaiktyps, weil diese im Endeffekt kaum im Phloem der Seide vorliegen. Ausnahmen stellen Fälle dar, wo Viren im Schmarotzerparenchym eine „zeitweilige Speicherung" (temporary storage) durchmachen. Das Phloem von *Cuscuta* enthält dagegen in relativ hoher Konzentration Viren des Vergilbungstyps, die daher in höheren Prozentsätzen als die Mosaiktyp-Viren übertragen werden. Anders liegen die Dinge, wenn die Seide selbst als Viruswirt fungiert. Es kommt dann zu sehr hohen Übertragungsprozenten, gleichgültig zu welchem Typ das infektiöse Agens gehört.

Es zeigt sich jedoch, daß die Voraussagen der geschilderten Theorie nicht immer eintreffen. Keineswegs bei allen Kombinationen von Viren und *Cuscuta*-Arten traten im Falle der Mosaiktyp-Viren entweder keine bzw. sehr geringe oder sehr hohe Übertragungsraten auf. Wie die eigenen Ergebnisse veranschaulichen, können diese Viren auch zu ausgesprochen mittleren Prozentsätzen übertragen werden.

BENNETT hat wohl die Frage der Viruswirtseigenschaften der *Cuscuta*-Arten nicht genügend berücksichtigt. Er erkannte nur dann eine Seideart als Viruswirt an, wenn in ihr das infektiöse Agens auch nach sehr lang dauern-

dem Wachstum auf immunen Pflanzen noch nachweisbar blieb. Im Vergleich zu den Verhältnissen bei grünen Pflanzen ist das eine weitgehende Forderung. Man bedenke, daß ohne weiteres *Nicotiana glutinosa* als Wirt des Tabakmosaik-Virus angesehen wird, obgleich für gewöhnlich nur eine lokale Vermehrung desselben in nekrotisch werdenden Stellen des abgeriebenen Blattes erfolgt, und daß z. B. HOLMES (1946) einhundert Pflanzenarten mit unsichtbarem lokalem Befall nach Abreibung mit dem gleichen Virus als dessen Wirte bezeichnete.

Warum sollten nicht auch die Seidearten ähnlich von bestimmten Viren befallen werden können? Zur Ausbildung eigentlicher Lokalläsionen in dem Sinne, wie sie nach mechanischer Infektion an Blättern auftreten, kommt es bei der Seide sicherlich nicht, weil sie ja fast ausschließlich aus Stengelmaterial besteht. Modellbeispiele für die Ausprägung von „lokalem" Befall an *Cuscuta* geben Versuche, in denen bei Abreibung lokal nekotrisch reagierende Wirte durch Einführung des Virus in das Leitgewebe infiziert worden sind. Nach SMITH (1951) kommt es bei der Pfropfung eines TMV-kranken Tabakreises auf *Nicotiana glutinosa* zu einer systemischen Nekrose der Unterlage. Weitere Beispiele ähnlicher Art sind leicht zu finden. Auch die unter dem Einfluß einer Übertragung des Gurkenmosaik- oder des Tabakmauche-Virus durch Seide an der Ackerbohne verursachten streifenförmigen Stengelnekrosen geben ein Bild davon, wie man sich an der Seide selbst die Ausprägung von „Lokalläsionen" vorzustellen hätte. Zu ähnlichen langausgezogenen Befallsstellen dürfte es auch dann kommen, wenn die betreffende Seide durch chlorotische oder überhaupt nicht sichtbare Lokalläsionen reagiert.

Solange eine Neuzufuhr von Virus erfolgt, dürfte es in lokal zu infizierender Seide mehr oder weniger gut nachweisbar sein und mehr oder weniger gut von ihr übertragen werden können. Auch während einer gewissen Zeit nach der Überführung auf einen virusimmunen oder nicht infizierten Wirt ist mit Virusgehalt des Schmarotzers zu rechnen. Allmählich, mit weitergehendem Wachstum, wird die Bildung virusfreien Seidematerials erfolgen. Virusfreie Triebe werden gelegentlich selbst von systemisch zu infizierenden Pflanzen erzeugt, wie die Beispiele des Steinklees nach Befall mit dem Wundtumoren-Virus (MARAMOROSCH 1949) und der Dahlie nach Befall mit dem Bronzeflecken-Virus (HOLMES 1955) beweisen.

In einer Reihe von Fällen, wo die Seide als Virusüberträger häufig Erfolg hatte, ohne daß ständige Vermehrung des Virus nachgewiesen werden konnte oder zu vermuten war, dürfte ein Parasit-Wirt-Verhältnis zwischen dem Virus und der *Cuscuta* vorgelegen haben.

Cuscuta californica übertrug den von BENNETT (1944) verwendeten Stamm des Tabakätzmosaik-Virus hundertprozentig und war bis zu einer Dauer von vier Wochen virushaltig. Im Sinne von BENNETT wäre diese Erscheinung als „temporary storage" zu bezeichnen. Es erscheint zwangloser, die Seide als Wirt des betreffenden Stammes des TEV anzusehen. Da *Cuscuta californica* kein Wirt des Tabakmosaik-Virus zu sein scheint, wäre damit zwar eine von HOLMES (1946) gefundene Regel durchbrochen, nach der ein Wirt des TEV stets auch dem TMV Möglichkeiten zur Vermehrung

bietet, jedoch vermutete bereits dieser Autor, daß Ausnahmen gefunden werden könnten. Außerdem ist eine solche Durchbrechung der Regel bereits in der Leguminose *Cassia tora* L. realisiert, die nach ANDERSON (1954) TMV-immun ist und durch TEV systemisch infiziert werden kann. Ein Wirt des TEV dürfte nach dem Ausgang der eigenen Versuche auch *Cuscuta lupuliformis* sein, sie zeigte ebenfalls keine Affinität zum TMV.

Ein Musterbeispiel für alle Übergänge von dauernder Virusvermehrung bis zu völliger Immunität scheinen die *Cuscuta*-Arten beim Tabakmauche-Virus zu bieten. *Cuscuta campestris* ist sicher ein systemisch infizierbarer Wirt des Virus, keinerlei Affinität zu ihm zeigt *C. californica*. Wahrscheinlich sind die rotblättrige Form von *Cuscuta sublinclusa* und *C. europaea* als „Lokalläsionswirte" anzusehen. Sie geben, zumindestens zeitweilig, ihre Empfänglichkeit für das Virus durch die Ausbildung von Krankheitserscheinungen kund.

Die *Cuscuta*-Arten gehören zur Familie der Convolvulaceen. Deshalb sind möglicherweise die morphologisch und physiologisch nicht vom Normalbild einer höheren Pflanze abweichenden Windengewächse als günstiges Vergleichsobjekt für die Wirkung von Viren auf Seidearten anzusehen. *Ipomoea purpurea* Lam. wurde mit dem Tabakmauche-Virus an den Keimblättern abgerieben. Sie reagierte darauf mit der Ausbildung ziemlich großer, zum Teil ringförmiger, nekrotischer Flecke. Testung nach vier Wochen ergab keinen Virusgehalt in den Spitzenblättern. *Convolvulus tricolor* L. zeigte nach Beimpfung keine Symptome, jedoch wurde bei der Rücktestung das Virus in den abgeriebenen Blättern wiedergefunden. Die Spitzenblätter waren wiederum virusfrei. Lokale Anfälligkeit für das Tabakmauche-Virus ist somit bei den Convolvulaceen zu finden.

Zusammenfassung

Die folgenden Seidearten wurden hinsichtlich ihrer Eignung als Virusvektoren einer Prüfung unterzogen: *Cuscuta campestris, C. californica, C. subinclusa, C. gronovii, C. americana, C. europaea, C. epilinum, C. epithymum* und *C. lupuliformis*.

Von acht untersuchten Seidearten übertrugen sieben einen Grünstamm des Gurkenmosaik-Virus nahezu regelmäßig. *Cuscuta lupuliformis* eignete sich kaum als Überträger. Ein Gelbstamm dieses Virus wurde im Vergleich zum Grünstamm von *Cuscuta californica* und *C. europaea* schlechter übertragen.

Mit dem Luzernemosaik-Virus vermittelten fünf Seidearten mehr oder weniger häufig Infektionen an *Nicotiana*-Arten, während *Cuscuta californica* und *C. epithymum* als Nichtüberträger festgestellt wurden.

Vier *Cuscuta*-Arten übertrugen das Tabakmauche-Virus zu über fünfzig Prozent auf Tabakpflanzen. Zwei weitere Arten erwiesen sich als weniger gute Vektoren. Eine hiervon, *Cuscuta subinclusa*, ließ sich in zwei morphologisch gut unterscheidbare Formen trennen, die sich als sehr ungleich zur Übertragung befähigt herausstellten. Auch mit diesem Virus konnten *Cuscuta californica* und *C. epithymum* keine Infektionen vermitteln.

Cuscuta lupuliformis erwies sich als einziger Vektor des Tabakätzmosaik-Virus.

Das Gelbe Bohnenmosaik-Virus, ein unidentifiziertes Virus von der Ackerbohne, das Y- und das Bukett-Virus der Kartoffel ließen sich durch keine der angesetzten Seidearten übertragen. Desgleichen konnten bei Übertragungsversuchen mit dem Kartoffel-X- und dem Rübenvergilbungs-Virus nur in Ausnahmefällen Erfolge erzielt werden.

Im Winter vermittelte *Cuscuta californica* Infektionen mit dem Bronzeflecken-Virus der Tomate zu einem relativ hohen Anteil.

Cuscuta campestris übertrug das Tabakmosaik-Virus während der Frühjahrs- und Sommermonate nur ausnahmsweise. In Versuchen von November bis Februar kam dagegen mit dieser Seideart eine größere Anzahl von Infektionen zustande. Auch mit anderen *Cuscuta*-Arten gelang in einigen Fällen eine Übertragung des Tabakmosaik-Virus.

Seideübertragungen des Gurkenmosaik-, Luzermosaik- und Tabakmauche-Virus auf Wirte, die nach Abreibung mit den betreffenden Viren nekrotische Lokalläsionen bilden, führten zur Erzeugung von Stengelnekrosen.

Die durch das Gurkenmosaik-Virus auf *Vicia faba* und *Vigna sinensis* hervorgerufenen Stengelnekrosen wurden anatomisch untersucht. Dabei ergab sich, daß bei beiden Pflanzenarten vor allem sklerenchymatisch werdende Zellkomplexe angegriffen wurden.

Im Preßsaft von Seidearten, die sich im Übertragungsversuch als Vektoren eines Virus erwiesen hatten, war es in der Regel nach Wachstum auf kranken Wirten gut nachweisbar. In Nichtüberträgern konnte kein oder nur ein geringer Virusgehalt festgestellt werden. Den Ergebnissen der Übertragungsversuche entsprechend, war das Tabakmosaik-Virus in *Cuscuta campestris* während der Wintermonate in bedeutend größerer Menge als in den übrigen Zeiten des Jahres zu finden.

Seidearten konnten als Wirte des Gurkenmosaik-, Tabakmauche- und Bronzeflecken-Virus ermittelt werden.

Die Viren des Gurkenmosaiks und der Tabakmauche verursachten an Seidearten Krankheitserscheinungen. Beim Gurkenmosaik-Virus war der Schädigungsgrad von der Stärke des Virusstammes abhängig.

Es wird darauf hingewiesen, daß die Seide auch dann ein Wirt eines Virus sein kann, wenn sie es beim Wachtum auf immunen Pflanzen nur für beschränkte Zeit enthält. In Analogie zu den Verhältnissen bei autotrophen höheren Pflanzen dürfte sie in einer Reihe von Fällen lokal virusanfällig sein.

Literaturverzeichnis

Mit * bezeichnete Arbeiten waren nur im Referat zugänglich.

ANDERSON, C. W., 1954: Cassia tora, a leguminous host of tobacco etch virus. Plant dis. reptr. **38**, 736—738.

BAERECKE, M. L., 1955: Versuche zur Isolierung von Stämmen des Blattrollvirus. Züchter **25**, 67—79.

BAWDEN, F. C., 1950: Plant viruses and viruses diseases. 3. Aufl. Waltham USA.

Bennett, C. W., 1940 a: Acquisition and transmission of viruses by dodder *(Cuscuta subinclusa)*. Phytopathology **30**, 2.

— —, 1940 b: The relation of viruses to plant tissues. Bot. rev. **6**, 427—473.

— —, 1944: Studies of dodder transmission of plant viruses. Phytopathology **34**, 905—932.

Cochran, G. W., 1946: The effect of shading techniques on transmission of tobacco mosaic virus through dodder. Phytopathology **36**, 396.

— —, 1947: The „dodder graft", a new method of using dodder to transmit plant viruses. Phytopathology **37**, 5.

Costa, A. S., 1944: Multiplication of viruses in the dodder *Cuscuta campestris*. Phytopathology **34**, 151—162.

Doolittle, S. P. and Zaumeyer, W. J., 1953: A pepper ringspot caused by strains of cucumber mosaic virus from pepper and alfalfa. Phytopathology **43**, 333—337.

Fuchs, W. H. und Beiss, U., 1954: Übertragung des Rübengelbsucht-Virus *(Corium betae)* mit Hilfe von *Cuscuta*. Naturwiss. **41**, 506.

Gaertner, E. E., 1950: Studies of seed germination, seed identification, and host relationship in dodders, *Cuscuta* spp. Cornell univ. agric. exp. stat., Mem. 294.

Gäumann, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl. Basel.

Giddings, N. J., 1950: Some interrelationships of virus strains in sugar-beet curly top. Phytopathology **40**, 377—388.

Grant, T. J., 1934: The host range and behaviour of the ordinary tobacco mosaic virus. Phytopathology **24**, 311—336.

Gualaccini, F., 1952: Recherche relative alla trasmissibilità dei virus per mezzo della *Cuscuta*. Boll. staz. patol. veg. **8**, 235—243.

Güssow, zitiert bei Köhler, E. und Klinkowski, M., 1954: Handb. Pflanzenkrankh. Bd. 2, 1. Lief., 6. Aufl., Berlin.

Hegi, G., 1926: Illustrierte Flora von Mittel-Europa. Bd. 5, Teil 3, 2089—2111, München.

Hein, A., 1956: Ein Beitrag zur Kenntnis der Viruskrankheiten an Unkräutern. Im Druck.

*Hildebrand, E. M., 1945: The dodder vector of woody plant viruses. Plant dis. reptr. **29**, 196—197.

Holmes, F. O., 1946: A comparison of the experimental host ranges of tobacco-etch and tobacco-mosaic viruses. Phytopathology **36**, 643—659.

— —, 1955: Elimination of spotted wilt from dahlias by propagation of tip cuttings. Phytopathology **45**, 224—226.

Johnson, E. M., 1946: Two legume viruses transmissible to tobacco. Phytopathology **36**, 142—147.

Johnson, F., 1941: Transmission of plant viruses by dodder. Phytopathology **31**, 649—656.

Klinkowski, M., 1956: Beiträge zur Kenntnis der Virosen der Gladiole in Mitteldeutschland. Mitt. Biol. Bundesanst. Heft 85, 139—150.

— — und Schmelzer, K., 1956: Beiträge zur Kenntnis des Virus der Tabakrippenbräune. Phytopath. Z. (im Druck).

Köhler, E., 1952: Die Bukettkrankheit, eine Viruskrankheit der Kartoffel. Phytopath. Z. **19**, 284—294.

— —, 1954 a: In: Köhler, E. und Klinkowski, M., Viruskrankheiten. Handb. Pflanzenkrankh. Bd. 2, 1. Lief., 6. Aufl., Berlin.

— —, 1954 b: Pflanzenpathogene Viren. Fortschr. Bot. **15**, 476—512.

— —, 1955: Weitere Beiträge zur Kenntnis des Y-Virus der Kartoffel. Phytopath. Z. **23**, 328—334.

Kreitlow, K. W. and Price, W. C., 1949: A new disease of ladino clover. Phytopathology **39**, 517—528.

Kuntz, J. E. and Walker, J. C., 1947: Virus inhibition by extracts of spinach. Phytopathology **37**, 561—579.

Ladeburg, R. C., Larson, R. H. and Walker, J. C., 1950: Origin, interrelation and properties of ringspot strains of virus X in American potato varieties. Wisconsin agric. exp. stat. res., Bull. **165**.

MACLEOD, zitiert bei: BAWDEN, F. C., 1950: Plant viruses and virus diseases. 3. Aufl., Waltham, USA.

MANIL, P., 1949 a: Inhibition de virus phytopathogènes par des extraits de plantes. C. R. séanc. soc. biol. **143**, 101—105.

— —, 1949 b: Observations sur les conditions de l'inhibition de virus par des extraits végétaux. C. R. séanc. soc. biol. **143**, 105—108.

* MARAMOROSCH, K., 1949: Occurrence of virus-free cuttings from sweet clover infected with wound tumor virus. Plant dis. reptr. **33**, 145.

MIYAKAWA, T. and YOSHII, H., 1951: Transmission of tobacco mosaic virus by the dodder, *Cuscuta japonica* and its inhibitory effect on the virus activity. Sci. bull. fac. agric. Kyushu univ. **12**, 143—154 (japanisch).

NOBREGA, N. R. und SILBERSCHMIDT, K., 1944: Sobre uma provavel variante do virus "Y" da batahinha (*Solanum* virus 2, Orton) que tem a peculiaridade de provocar necroses em plantas de fumo. Arqu. inst. biol. **15**, 307—330.

NOORDAM, D., 1952 a: *Lycopersicum*-virus 3 (tomato spotted wilt) bij enkele bloemisterijgewassen. T. plantenz. **58**, 89—96.

— —, 1952 b: Virusziekten bij chrysanten in Nederland. T. plantenz. **58**, 121—190.

PRICE, W. C., 1940: Comparative host ranges of six plant viruses. Amer. j. bot. **27**, 530—541.

QUANTZ, L., 1953: Untersuchungen über ein samenübertragbares Mosaikvirus der Ackerbohne (*Vicia faba*). Phytopath. Z. **20**, 421—448.

ROBERTS, D. A., WILKINSON, R. E. and ROSS, A. F., 1951: *Chenopodium hybridum*, a local-lesion host of cucumber-mosaic virus. Phytopathology **41**, 31.

SAKIMURA, K., 1947: Virus transmission by *Cuscuta sandwichiana*. Phytopathology 37, 66—67.

SCHMELZER, K., 1955 a: Die Übertragbarkeit des Tabakmauche-Virus durch *Cuscuta*-Arten. Naturwiss. **42**, 19.

— —, 1955 b: Zur Kenntnis des Wirtspflanzenkreises des Tabakmauche-Virus. Naturwiss. **42**, 564.

— —, 1956: Beiträge zur Kenntnis der Virushemmstoffe in *Cuscuta*-Arten. Zbl. Bakt. II. Abt. **109**, 382—415.

SCHRAMM, G., 1952: Über die Größe und Gestalt des Kartoffel-Y-Virus. Z. Naturforsch. **7 b**, 513—518.

SEDLAG, U., 1954: Konstanz und Relativität des Erfolges bei Infektionsversuchen mit dem Virus der „virösen Vergilbung der Rübe". Nachr.Bl. Dtsch. Pflanzenschutzd. N. F. **8**, 101—107 (Berlin).

SMITH, K. M., 1937: A textbook of plant virus diseases. London.

— —, 1946: Tobacco rosette: a complex virus disease. Parasitology **37**, 21—24.

— —, 1951: Recent advances in the study of plant viruses. 2. Aufl. London.

STAPP, C., 1950: Der Nachweis von Viruskrankheiten der Kartoffel auf serologischem Wege. Kartoffelwirtschaft **3**, 154—155.

*STOREY, H. H., 1932: The inheritance by an insect vector of the ability to transmit a plant virus. Proc. roy. soc. B **112**, 46—60.

STUBBS, L. L., 1955: Strains of *Myzus persicae* (Sulz.) active and inactive with respect to virus tranmission. Austral. j. biol. sci. **8**, 68—74.

USCHDRAWEIT, H. A., 1954: Die Bedeutung der Stauden für die Virusverbreitung. Mitt. Biol. Bundesanst. Heft 81, 25—33.

— —, 1955 a: Das Grünscheckungsmosaik der Gurke. Nachr.Bl. Dtsch. Pflanzenschutzd. (Braunschweig) **7**, 150—151.

— —, 1955 b: *Chenopodium quinoa* als Testpflanze für das Gurkenmosaik. Nachr.Bl. Dtsch. Pflanzenschutzd. (Braunschweig) **7**, 151—152.

VAN DER WANT, J. P. H., 1955: Transmission of tobacco-rattle virus by means of dodder. Plant dis. reptr. **39**, 553—554.

WELLMAN, F. L., 1934: Infection of *Zea mays* and various other gramineae by the celery virus in Florida. Phytopathology **24**, 1035—1037.

YUNCKER, T. G., 1932: The genus *Cuscuta*. Mem. Torrey bot. club **18**, 109—331.

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Virusserologie, Braunschweig

Über Verwandtschaftsbeziehungen und Konzentrationsverhältnisse bei Viren der Tabak-Ringspot-Gruppe[1])

Von

R. Bercks und F. Gehring

Mit 2 Abbildungen

I. Einleitung

In Deutschland sind bisher von Köhler (8, 9) zwei Viruskrankheiten bei der Kartoffel (Bukett und Pseudo-Aucuba) beschrieben worden, deren Erreger zur Tabak-Ringspot-Gruppe gezählt werden. Die Einreihung der betreffenden Viren in den Verwandtschaftskreis des amerikanischen „tobacco ringspot virus" erfolgte auf Grund von Übereinstimmungen im Krankheitsbild auf Tabak und anderen Eigenschaften, die aus der Literatur über das Tabak-Ringspot-Virus bekannt waren. Im Verlaufe von Untersuchungen über die serologischen Nachweismöglichkeiten an Kartoffelpflanzen traten Fragen auf, die es uns ratsam erscheinen ließen, die Zugehörigkeit dieser Viren zur Tabak-Ringspot-Gruppe näher zu untersuchen und gemeinsame Merkmale sowie Unterschiede in vergleichenden Versuchen festzustellen. Wichtige Methoden zur Artabgrenzung und -bestimmung von verwandten Viren sind die serologische Differenzierung nach der Absorptionsmethode und der Prämunitätstest. Diese beiden Untersuchungsverfahren wurden auch in unserem Falle für die Verwandtschaftsbestimmung der erwähnten Viren angewendet, worüber im folgenden berichtet wird.

Für die Herstellung von Antiseren interessierten uns außerdem die Konzentrationsverhältnisse im Tabak, insbesondere im Hinblick auf die bei

1) Der Deutschen Forschungsgemeinschaft wird für die gewährte Unterstützung der Arbeit bestens gedankt.

diesen Viren vorkommende äußere „Gesundung", die stets mit einem Rückgang der Viruskonzentration verbunden ist. In vergleichenden Konzentrationsuntersuchungen am Tabak wurden deshalb die Veränderungen des Virusgehaltes vom Infektionsbeginn bis zur äußeren „Gesundung" nach der serologischen Methode festgestellt.

Einzelheiten über den Krankheitsverlauf der aus Kartoffeln isolierten Ringflecken-Viren auf dieser Wirtspflanze im Vergleich zum Infektionsverlauf des Tabak-Ringspot-Virus beim Tabak sowie ausführliche Literaturangaben finden sich bei GEHRING und BERCKS (3).

II. Material und Methodik

Als Versuchsmaterial dienten folgende Viren[1]):

1. Zwei 1950 von KÖHLER (9) isolierte Stämme (C und H) des Bukett-Virus (BV), die die sog. Bukettkrankheit der Kartoffel hervorrufen und von KÖHLER (10) zusätzlich als *Solanum*-virus *deformans* Köhler oder Schweres Kartoffel-ringspot bezeichnet wurden. Stamm H wurde in der Arbeit von KÖHLER (9) versehentlich als Stamm N angegeben.
2. Als Pseudo-Aucuba-Virus (PAV) lag uns nicht das 1940 von KÖHLER (8) isolierte Gelbfleckigkeitsvirus vor, sondern ein von diesem Autor 1953 aus gelbfleckigen Kartoffeln neu gewonnener Stamm. Für dieses Virus gebraucht KÖHLER als weitere Bezeichnungen: *Solanum*-virus *pseudo-aucuba* Köhler, Ringspot-Aucuba, Falsches Kartoffel-Aucuba oder Leichtes Kartoffel-ringspot (8, 11).
3. Das eigentliche in Amerika vorkommende Tabak-Ringflecken-Virus (TRSV) *Annulus tabaci* Holmes (5), und zwar der Stamm *Annulus tabaci* var. *Virginiensis* H.

Die Herstellung der Antiseren erfolgte nach verschiedenen Methoden. Die bei der Reinigung anderer Viren vielfach übliche Ammoniumsulfatfällung ließ sich bei den Tabak-Ringflecken-Viren wegen des nachfolgenden Aktivitätsverlustes nicht anwenden. Als Ausgangsmaterial für die zur Immunisierung von Kaninchen verwendeten Antigenlösungen diente der Preßsaft symptometragender Tabakblätter. Die Chloroplasten wurden entweder durch Einfrieren des Rohsaftes bei —10 bis —15 ° C, Auftauen und Zentrifugieren (20 Min. bei 3000 U/min), durch höhertouriges Zentrifugieren (30—40 Min. bei 10 000 U/min) oder durch Behandlung mit Chloroform nach dem von PFANKUCH und KAUSCHE (13) angewendeten Reinigungsverfahren für das Tabakmosaik- und Kartoffel-X-Virus entfernt. Anschließend wurde das Zentrifugat nach der bei HENDERSON und WINGARD (4) angeführten Methode

[1]) Für die Überlassung der Virusisolate danken wir Herrn Oberregierungsrat a. D. Dr. E. KÖHLER, Braunschweig, und Herrn Dr. G. T. A. BENDA, Berkeley, University of California.

mit der doppelten Menge Aceton versetzt und die bräunlich-flockige Fällung bei niederer Tourenzahl kurz abgeschleudert und das Zentrifugat verworfen. Die Fällung mit 95%igem Äthylalkohol (4) erwies sich als weniger geeignet.

Vorversuche zeigten, daß die zur Fällung verwendete Acetonlösung 1 : 1 mit dest. Wasser verdünnt werden kann. Es werden dabei weniger normale Zellbestandteile ausgefällt als mit einer 100%igen Lösung, während noch sämtliches Viruseiweiß erfaßt wird. Der bei HENDERSON und WINGARD (4) angegebene Zusatz von basischer Bleiacetatlösung und Bariumacetatlösung zum Preßsaft vor der Acetonfällung brachte keine bessere Virusausbeute und konnte vernachlässigt werden.

Das Sediment der Acetonfällung wurde weiter mit Hilfe eines Glashomogenisators (Modell Eppendorf der Fa. Braun, Melsungen) in einer geringen Menge 0,01 mol. Phosphatpuffer (pH 7,2) aufgenommen und die Hauptmasse der Fällung nochmals kurz bei 4000 U/min abzentrifugiert und verworfen.

Nach STANLEY (19) löst sich das TRSV in diesem Puffer am besten und ist in dieser Lösung bei 4 ° C auch in vitro am beständigsten. Infolge der hohen Temperaturempfindlichkeit des Virus wurden möglichst alle Arbeitsgänge bei niederen Temperaturen (etwa bei 4 ° C) durchgeführt. Die auf diese Weise erhaltenen Viruslösungen wurden während eines Zeitraumes von drei Wochen Kaninchen intravenös injiziert. Während der ersten Woche wurden 1 bis 2 ccm, während der zweiten 2 bis 3 ccm und während der letzten 3 bis 6 ccm an jeweils drei bis fünf Tagen injiziert. Die Titerbestimmungen der erhaltenen Antiseren ergaben Werte von 1 : 64 bis 1 : 256.

III. Konzentrationsverhältnisse im Tabak

Tabakpflanzen („Samsun") wurden im Vierblattstadium an zwei Blättern mit dem BV (Stamm C) durch Abreibung infiziert und die Viruskonzentration vom zehnten Tage p. i. im Abstand von zwei bis fünf Tagen serologisch (Titerbestimmung der einzelnen Blätter) untersucht. Die Titerbestimmungen wurden mit einem entsprechenden Antiserum durchgeführt, das 1 : 1 mit gesundem Tabaksaft abgesättigt war und einen Titer von 1 : 128 hatte. Abbildung 1 zeigt die Veränderungen des Virusgehaltes und des Symptombildes von der akuten Krankheitsphase bis zur äußeren Gesundung der Tabakpflanzen, in denen ein serologischer Virusnachweis in den meisten Fällen nicht mehr möglich war.

Aus der Abbildung geht deutlich die für die Tabak-Ringspot-Viren charakteristische Abnahme des Virusgehaltes während des Krankheitsverlaufs hervor, die in der Regel mit einem allmählichen Verschwinden der Krankheitssymptome parallel geht. Nach mehr als 60 Tagen konnte das Virus in den äußerlich gesundeten Pflanzen serologisch nicht mehr nachgewiesen werden, wohl aber noch durch Abreibungen auf Tabak. Der Stamm H des BV und das PAV verhielten sich ähnlich. Zu verschiedenen Jahreszeiten durchgeführte

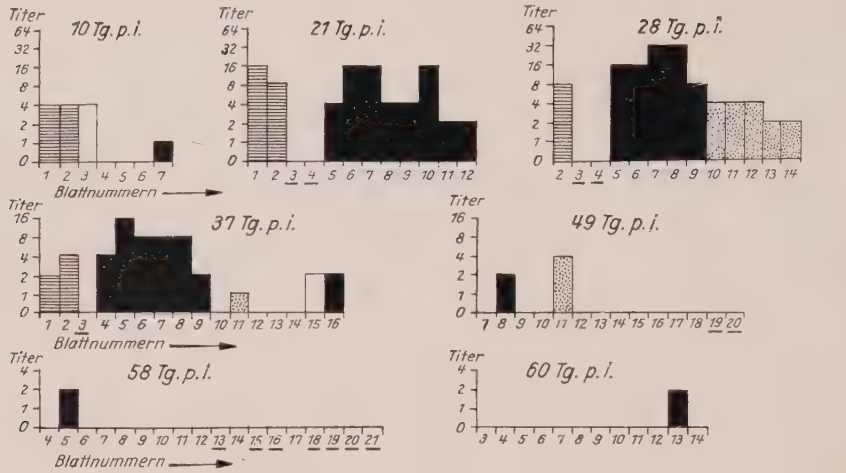


Abb. 1. Konzentration des BV im Tabak

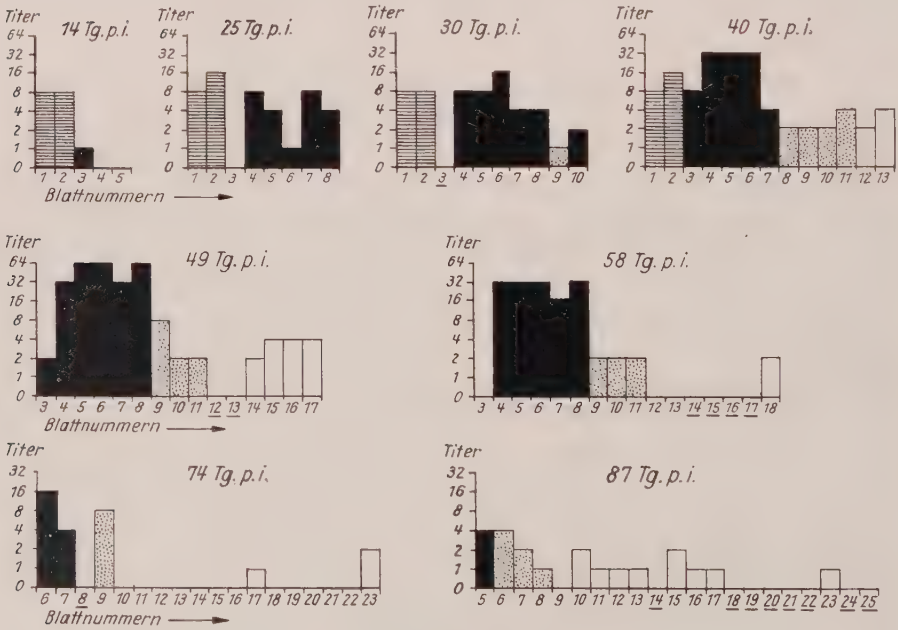


Abb. 2. Konzentration des TRSV im Tabak
Erklärung s. Abb. 1

Wiederholungen brachten ebenfalls keine wesentlichen Konzentrationsunterschiede. Beim TRSV wurde dagegen im Hinblick auf die Konzentrationsverhältnisse unter gleichen Versuchsbedingungen ein stärker abweichender Krankheitsverlauf festgestellt (Abb. 2).

Nach Abbildung 2 erreicht das amerikanische Tabak-Ringspot-Virus im Tabak höhere Konzentrationen als die von Kartoffeln isolierten Ringspot-Stämme und ist manchmal noch nach 87 Tagen in einzelnen Blättern serologisch nachweisbar. Parallel dazu ist die Symptombildung stärker und die Gesundung verzögert.

Tabelle 1

Differenzierungsversuch zwischen BV und PAV

Absättigungsstufen des BV-Antiserums mit PAV-Saft	Virus	Virustiter							
		k	2	4	8	16	32	64	128
Kontrolle (unbehandelt)	BV	3	2/3	2	2	1/2	1/2	1	0/1
	PAV	1	0/1	0/1	Sp	Sp	Sp		
1 : 2	BV	2	1/2	1/2	1/2	1	1	0/1	Sp
	PAV	0/1	0/1						
1 : 3	BV	2	1/2	1	1/2	1	0 1	Sp	Sp
	PAV	0/1	Sp						
1 : 4	BV	1	1/2	1/2	1	0 1	Sp	Sp	
	PAV	Sp	Sp						
1 : 5	BV	1	1/2	1/2	1				
	PAV	0/1							
1 : 6	BV	1	1/2	1	0/1				
	PAV	0							

Absättigungsstufen des PAV-Antiserums mit BV-Saft	Virus	Virustiter							
		k	2	4	8	16	32	64	128
Kontrolle (unbehandelt)	PAV	2	3	2/3	2	1 2	1	0/1	Sp
	BV	1	2	1/2	1	1	0 1	Sp	
1 : 2	PAV	1/2	3	2 3	2	1/2	1		
	BV	1	1	0 1	0 1	Sp			
1 : 3	PAV	1/2	2	2	1 2	1	0/1		
	BV	1	1	1	0/1				
1 : 4	PAV	3	1/2	1	1	1/2	Sp		
	BV	2	0/1	Sp					
1 : 5	PAV	2	1/2	1	1	0 1			
	BV	1	0/1						
1 : 6	PAV	2	2	1,2	1	0/1	0 1		
	BV	0							

Stärke der Reaktionen: 0—4, Sp = Spuren; k = konzentriert.

Tabelle 2

Differenzierung zwischen PAV und TRSV

TRSV-Antiserum-Verdünnungsstufen	Virus	Virustiter							
		k	2	4	8	16	32	64	
Kontrolle (nicht verdünnt)	TRSV	2/3	2	1/2	1	0/1	Sp	0	
	BV	0	0	0	0	0	0	0	
	PAV	0	0	1	1	1	0/1	0	
1 : 2	TRSV	2/3	2	2	1/2	1	0/1	0	
	BV	0	0	0	0	0	0	0	
	PAV	0	0	0/1	1	1	Sp	0	
1 : 4	TRSV	2	1/2	1/2	1/2	1	Sp	0	
	BV	0	0	0	0	0	0	0	
	PAV	0	0	0	0/1	0/1	0	0	
1 : 6	TRSV	2	2	1/2	1	0/1	0	0	
	BV	0	0	0	0	0	0	0	
	PAV	0	0	0	0/1	Sp	0	0	
1 : 8	TRSV	1/2	1/2	1/2	1	1	0/1	0	
	BV	0	0	0	0	0	0	0	
	PAV	0	0	0	0	0	0	0	

Absättigungsstufen des TRSV-Antiserums mit PAV-Saft	Virus	Virustiter							
		k	2	4	8	16	32	64	128
Kontrolle (unbehandelt)	TRSV	3	2/3	2	1/2	1	0/1	Sp	0
	PAV	0	0	1	1/2	1/2	1	0/1	0
1 : 0,2	TRSV	3	2/3	2	1/2	1	0	0	0
	PAV	0	0	0	0/1	1	0	0	0
1 : 0,4	TRSV	3	2/3	2	1/2	1	0	0	0
	PAV	0	0	0	0	Sp	0	0	0
1 : 0,5	TRSV	2/3	2	1/2	1	0/1	0	0	0
	PAV	0	0	0	0	0	0	0	0

IV. Serologische Verwandtschaftsbeziehungen

Nach KÖHLER (2) ist der BV-Stamm C in seiner Symptomausprägung bei Abreibungsversuchen mit verschiedenen Testpflanzen stärker als der Stamm H. Es wurde deshalb geprüft, ob sich diese beiden Stämme serologisch differenzieren lassen. Entsprechende Versuche ergaben jedoch keinerlei Unterschiede; aus diesem Grunde wurde bei den folgenden Versuchen nur noch der Stamm C verwendet. In weiteren Untersuchungen wurde die Verwandtschaft zwischen dem BV und PAV geprüft. Dabei zeigte sich, daß BV-Antiserum mit PAV reagierte und umgekehrt. Durch Absättigungsversuche ließen sich aber diese beiden Viren abgrenzen. Die Versuche wurden folgendermaßen durchgeführt: Serum gegen das BV, das 1 : 1 mit gesundem Tabaksaft abgesättigt worden war und einen Titer von 1 : 128 hatte, wurde mit steigenden Mengen (1 : 2 bis 1 : 6) PAV-haltigen Tabaksaftes versetzt, ein bis zwei

Stunden bei 25 ° C stehengelassen und 25 Min. bei 3000 U/min zentrifugiert. Mit den auf diese Weise vorbehandelten Seren und zentrifugierten BV- und PAV-haltigen Rohsäften wurden Präzipitinreaktionen angesetzt. Parallel dazu wurde Serum gegen das PAV (Titer 1 : 128) mit BV-haltigem Saft abgesättigt und anschließend in gleicher Weise geprüft. Für sämtliche Verdünnungsreihen wurde physiologische NaCl-Lösung verwendet. Tabelle 1 zeigt das Ergebnis dieser beiden Versuchsreihen.

Es ist klar ersichtlich, daß BV und PAV neben gemeinsamen auch spezifische serologisch aktive Gruppen besitzen. Wenn BV- bzw. PAV-Serum 1 : 6 mit dem jeweils anderen Virus abgesättigt wird, sind alle gemeinsamen Antikörper gebunden, und es reagieren nur noch die spezifischen Antikörper mit den spezifischen determinanten Gruppen des entsprechenden Antigens.

Es blieb nun noch zu klären, wie sich serologisch PAV und BV zum TRSV verhielten. Zunächst wurde jedes Antiserum (Titer 1 : 128) mit den drei Viren geprüft. Dabei ergab sich überraschenderweise, daß weder das BV-Antiserum mit TRSV-haltigem noch TRSV-Antiserum mit BV-haltigem Tabaksaft reagierten. Nur das PAV reagierte mit TRSV-Antiserum, aber umgekehrt das TRSV wiederum nicht mit PAV-Antiserum. Tabelle 2 gibt über die serologischen Beziehungen des PAV zum TRSV Auskunft.

V. Prämunitätsversuche

Nachdem die geringe serologische Verwandtschaft des TRSV zum PAV bekannt war, — zum BV konnte eine solche trotz zahlreicher Wiederholungsversuche nicht festgestellt werden — wurde das Verhalten dieser Ringspot-Viren im Prämunitätsversuch geprüft.

Etwa 10—12 Wochen nach der Erstinfektion mit BV, PAV und TRSV wurden äußerlich gesundete Blätter von Tabakpflanzen wechselseitig mit einem jeweils anderen und zur Kontrolle mit dem gleichen Virus neu infiziert. 8—14 Tage nach der Zweitinfektion wurde das Ausbleiben oder das Erscheinen von Symptomen festgestellt. Über die gegenseitige Schutzwirkung der drei genannten Ringfleckenviren unterrichtet Tabelle 3.

Tabelle 3

Virusneu-infektion mit	Pflanze gesundet von		
	BV	PAV	TRSV
BV	++	+	0
PAV	+	++	0
TRSV	0	0	++

++ = völliger Schutz
+ = fast völliger Schutz
0 = kein Schutz

Wie nach dem Ergebnis der serologischen Verwandtschaftsbestimmung bereits zu erwarten war, zeigte sich zwischen dem TRSV einerseits und dem BV und PAV andererseits keine Schutzwirkung. Bei der Zweitverimpfung des BV zum PAV und umgekehrt traten manchmal noch wenige Symptome

auf, wobei aber das zweitverimpfte Virus in keinem Falle stärker zum Durchbruch kam. Das TRSV verhielt sich dagegen bei der Zweitinfektion zum BV und PAV und umgekehrt wie nach einer Erstinfektion (Tabelle 4).

Tabelle 4

Serologische Prüfung des Virusgehaltes von Tabakblättern nach der Zweitinfektion im Prämunitätsversuch

1. Pflanze gesundet vom BV und neu infiziert mit TRSV				2. Pflanze gesundet vom TRSV und neu infiziert mit BV			
Beimpfte Blätter	Folgeblätter	Virus	Safttiter	Beimpfte Blätter	Folgeblätter	Virus	Safttiter
1.		BV	1 : 4	1.		TRSV	1 : 2
		TRSV	1 : 64			BV	1 : 4
2.		BV	1 : 4	2.		TRSV	1 : 4
		TRSV	1 : 64			BV	1 : 8
	1.	BV	1 : 2		1.	TRSV	0
		TRSV	0			BV	1 : 16
	2.	BV	1 : 2		2.	TRSV	0
		TRSV	1 : 32			BV	1 : 16
	3.	BV	0		3.	TRSV	1 : 1
		TRSV	1 : 32			BV	1 : 8
	4.	BV	0		4.	TRSV	1 : 4
		TRSV	1 : 8			BV	1 : 4

Die in Tabelle 4 angegebenen Werte über den Safttiter und die Untersuchungen über die Konzentrationsverhältnisse im Tabak (Abb. 1 und 2) zeigen, daß bei der Zweitinfektion prämunisierter Tabakpflanzen der Virusgehalt die gleiche Höhe erreichen kann wie bei einer Erstinfektion. Auch symptomatologisch sind zwischen einer Erstinfektion gesunder Pflanzen und der Zweitinfektion prämunisierter Pflanzen keine Unterschiede festzustellen.

VI. Besprechung

Trotz Anwendung verschiedener Reinigungsmethoden gelang es nicht, höhertitrige Seren zu erhalten. Die Hauptmasse des Virusproteins geht wahrscheinlich bei der Zentrifugation des Rohsaftes und der in Pufferlösung aufgenommenen Acetonfällung verloren. Die verworfenen Sedimente enthielten in jedem Falle noch Virus, was durch Abreibungen der Sedimente auf Tabak nachgewiesen wurde. Die Virusteilchen sind offenbar in starkem Maße an gröbere Zellbestandteile adsorbiert und gehen in 0,01 mol. Phosphatpuffer (pH 7,2) nie vollständig in Lösung. Eine bessere Virusausbeute dürfte die Anwendung der Ultrazentrifuge bringen. Bereits STANLEY (19) hat auf diese schonende Reinigungsmethode bei solchen empfindlichen Viren, wie es u. a.

das TRSV darstellt, hingewiesen. In einer neuen Arbeit von STEERE (20) wird ein Reinigungsverfahren für das TRSV mit Hilfe der Ultrazentrifuge genau beschrieben, nach dem z. B. aus 1 Liter Rohsaft infizierter Kotyledonen von *Cucurbita pepo* L. var. *Caserta* 45 mg gereinigtes Virusprotein erhalten wurde.

Abgesehen von dem intensiveren Krankheitsverlauf des von uns geprüften TRSV auf Tabak, der sich darin äußerte, daß dieses Virus im Vergleich zum BV unter gleichen Versuchsbedingungen höhere Konzentrationen erreichte und deshalb auch einen längeren Zeitraum für die äußere Gesundung benötigte (Abb. 1 und 2), verhielten sich beide Viren auf dieser Wirtspflanze gleich. Besonders bemerkenswert sind die Ergebnisse der Konzentrationsuntersuchungen im Hinblick auf die theoretischen Vorstellungen, die man sich über den Verlauf des Gesundungsvorganges bei den Tabakringflecken-Viren gemacht hat. PRICE (15) hat auf Grund von Konzentrationsbestimmungen an gesundeten Tabakpflanzen, die er mehrere Generationen hindurch als Stecklinge weiterzog, nachgewiesen, daß sich das TRSV in gesundeten Pflanzen noch vermehrt. Zur Erklärung dieses Verhaltens führt er zwei Möglichkeiten an: Erstens könnte die Virusvermehrung an bestimmten Stellen der Pflanze erfolgen, die nicht durch Symptome gekennzeichnet sind und das Virus von diesen Bezirken aus in den Vegetationspunkt der Pflanze einwandern. Zweitens könnte die Virusvermehrung in den embryonalen Zellen des Vegetationspunktes gesundeter Pflanzen stattfinden und das Virus in jede sich entwickelnde neue Zelle eindringen. Die Zellen des Vegetationspunktes sollen aber befähigt sein, die Virusvermehrung soweit einzuschränken, daß es nicht mehr zur Symptomausbildung kommt, wie überhaupt der Virusbefall des Vegetationspunktes mit dem Beginn des Gesundungsprozesses in Verbindung gebracht wird. Wie aus Abb. 1 und 2 deutlich hervorgeht, reagierte der Saft aus jungen Blättern der Spitzenregion von bereits äußerlich gesundeten Pflanzen in manchen Fällen noch serologisch positiv. Unsere experimentellen Befunde lassen also vermuten, daß die von PRICE (15) theoretisch geforderte Virusvermehrung in den jüngsten Blättern des Zuwachses gesundeter Pflanzen vor sich geht. Ob diese Vermehrung auf bestimmte Stellen beschränkt ist, kann nicht gesagt werden.

Die Virusvermehrung könnte natürlich entsprechend der zweiten Annahme in den Zellen des Vegetationspunktes stattfinden. In diesem Falle müßten aber verhältnismäßig große Virusmengen aus dem Vegetationspunkt in die jungen Blätter einwandern, da erfahrungsgemäß der serologische Nachweis im Vergleich zum Abreibetest eine höhere Viruskonzentration zur Voraussetzung hat. Aus diesem Grunde halten wir die zweite Annahme für wenig wahrscheinlich, zumal noch nicht bewiesen wurde, daß das Virus tatsächlich in den embryonalen Zellen der Vegetationspunkte vorkommt. Die Frage nach dem Ort der Virusvermehrung in äußerlich gesundeten Pflanzen kann vielleicht mit Hilfe elektronenoptischer Untersuchungen ultradünner Schnitte durch das meristematische Gewebe der Sproßspitzen einer Klärung näher gebracht werden.

Der Zeitpunkt, von dem ab der Gesundungsmechanismus einsetzt, und die Natur dieses Mechanismus sind unbekannt und einer experimentellen Prüfung nicht zugänglich.

Aus Abbildung 1 und 2 ist weiterhin ersichtlich, daß der serologische Virusnachweis in gleicher Weise wie bei der serologischen Prüfung BV-infizierter Kartoffeln (3) auch ab und zu im Saft von symptomlosen Blättern gelingt, wie er andererseits im Saft von symptomtragenden Blättern negativ sein kann (vgl. hierzu auch Price [15]).

Wie die serologischen Verwandtschaftsbestimmungen ergeben, sind BV und PAV deutlich zu differenzieren (Tabelle 1). Sie haben aber doch noch viele serologisch aktive Gruppen gemeinsam, so daß sie als Varianten des gleichen Virus anzusehen sind, wie auch die Prämunitätsversuche zeigen. Aus diesem Grunde halten wir die von Köhler vorgenommene Trennung in zwei Arten für nicht berechtigt, zumal unsere Infektionsversuche mit dem PAV an Kartoffeln die gleichen Symptome wie bei dem BV ergeben haben und in keinem Falle eine Gelbfleckigkeit aufgetreten ist. In diesem Zusammenhang ist noch darauf hinzuweisen, daß A. Hein (briefliche Mitteilung) auf Grund von Untersuchungen über das Luzernemosaik-Virus es für möglich hält, daß die von Köhler 1940 isolierten Stämme des PAV Isolierungen des Luzernemosaik-Virus sind.

Die serologischen Differenzierungsversuche des BV und PAV mit dem TRSV zeigten ein unerwartetes Ergebnis (Tabelle 2). Nur das PAV reagierte mit TRSV-Antiserum, aber umgekehrt das TRSV nicht mit PAV-Antiserum. Als Erklärung für dieses letztere Verhalten kann angenommen werden, daß die gemeinsamen serologisch aktiven Gruppen beim TRSV in stärkerem Maße dazu fähig sind, Antikörper zu bilden als beim PAV. Theoretisch muß auch das PAV zur Bildung der gemeinsamen Antikörper fähig sein. Sie ist aber vermutlich in diesem Falle so gering, daß sie mit dem Präzipitin-Test nicht mehr erfaßt werden kann. Möglicherweise reicht der Präzipitin-Test auch bei der Differenzierung des BV und TRSV nicht aus, und beide Viren besitzen doch — wenn auch sehr wenig — gemeinsame Antigenkomponenten. Vielleicht läßt sich mit höhertitrigen Seren oder mit der Komplementbindungsreaktion eine bessere Differenzierung durchführen, entsprechende Versuche sind eingeleitet. Solange sich jedoch keine nähere serologische Verwandtschaft zum echten TRSV feststellen läßt, müssen BV und PAV als Varianten einer besonderen Art der TRSV-Gruppe angesehen werden.

Diese Annahme wird durch das Ergebnis der Prämunitätsversuche gestützt (Tabelle 3 und 4). Price (16) beschrieb 1936 eine Viruskrankheit des Tabaks als Ringspot Nr. 2, die sich zu anderen Ringspot-Viren in gleicher Weise verhielt wie BV und PAV zum TRSV, d. h. es zeigte sich im Prämunitäts-Test ebenfalls völlig verschieden vom gewöhnlichen Tabak-Ringspot-Virus Nr. 1 sowie vom „Green Ringspot"- und „Yellow-Ringspot-Virus".

Knight (7) gibt in einer Arbeit über Verwandtschaftsbestimmungen von Viren neben positiven Prämunitätsprüfungen und positiven serologischen Differenzierungsversuchen noch folgende fünf Kriterien an, die bei verwandten Viren gegeben sein sollten: Ähnlichkeit im Wirtspflanzenkreis, Über-

einstimmung der allgemeinen chemischen und physikalischen Eigenschaften, gleiche Größe und Form, ähnliches Mutationsvermögen in der Wirtspflanze, ähnliche Übertragungsmethoden.

Betrachten wir unter d i e s e n Gesichtspunkten BV und PAV im Vergleich zum TRSV, so ist dazu noch folgendes zu sagen: Bode (zitiert nach Köhler [12]) hat den Wirtspflanzenkreis des BV untersucht und dabei die Angaben von Price (17) über den Wirtspflanzenkreis des TRSV weitgehend bestätigen können. Bemerkenswert ist nach unserer Meinung die Tatsache, daß BV und PAV im Gegensatz zum TRSV auf Tomate leicht mechanisch übertragbar sind. Entsprechende Versuche sollen zeigen, ob die von uns geprüften Ringspot-Viren vielleicht mit dem Tomaten-Ringspot-Virus (*Annulus zonatus* Holmes [5]) näher verwandt sind als mit dem TRSV.

Über die chemischen und physikalischen Eigenschaften des BV und PAV ist wenig bekannt. Nur über die thermale Inaktivierung und den Verdünnungsendpunkt liegen Angaben vor (8, 9). Nach eigenen Versuchen kann die Inaktivierungstemperatur beim BV und PAV mit 60 bis 70 °C angegeben werden. Sie stimmt mit der vom TRSV bekannten ungefähr überein (1, 6, 14, 19). Bei der Bestimmung der thermalen Inaktivierungstemperatur liegt die Fehlergrenze so hoch, daß gesicherte Unterschiede bei den von uns geprüften Ringspot-Viren nicht festgestellt werden konnten. Die Schwierigkeiten, die hierbei auftreten, sind auch aus einer Arbeit von Price (18) ersichtlich.

Im Hinblick auf das Mutationsvermögen dürften beim BV und PAV im Vergleich zum TRSV ähnliche Verhältnisse vorliegen. Köhler (12) betont die große Variabilität der von ihm isolierten Viren; beim TRSV sind ebenfalls schon seit langem zahlreiche Stämme bekannt (5).

Auch Gestalt und Größe der betreffenden Viren stimmen anscheinend überein (2, 12, 20).

Weiterhin lassen sich alle Viren der TRS-Gruppe von Tabak auf Tabak leicht mechanisch übertragen. Von Kartoffel auf Kartoffel und von Tabak zur Kartoffel sind dagegen die Tabak-Ringspot-Viren nur schwierig mechanisch zu übertragen (vgl. hierzu Gehring und Bercks [3]).

Zweifellos sind das Versagen der Prämunität und die geringe serologische Verwandtschaft die am stärksten abweichenden Eigenschaften. Ein wesentliches Kriterium aber, nach dem die aus Kartoffel isolierten Ringspot-Viren (BV und PAV) zur Gruppe der Tabak-Ringspot-Viren zu zählen sind, ist unseres Erachtens das Symptombild und der Krankheitsverlauf auf Tabak. Beim Übergang zur äußeren Gesundung erscheinen charakteristische „Gesundungssymptome", z. B. Eichenblattmuster und Blätter, bei denen die Symptome auf die Spitzenteile beschränkt sind. Ihr Auftreten ist stets mit einem Rückgang der Viruskonzentration verbunden.

Das PAV konnte vom BV serologisch deutlich differenziert werden. Auch im Symptombild auf Tabak zeigen sich Unterschiede. Nach Köhler (12) verursacht das PAV auf Tabak eine weniger klare, mehr verwaschene Zonenbildung, während beim BV als Folgesymptome regelmäßig die typischen

großen Ringflecken mit Zonenbildung erscheinen. Der stärkste Unterschied zwischen dem Krankheitsbild des PAV und BV auf Tabak zeigt sich nach unseren Beobachtungen jedoch darin, daß die mit PAV beimpften Tabakpflanzen eine viel stärkere Wachstumshemmung erfahren und einen stark gestauchten Eindruck machen, der sie im Habitus deutlich von mit BV-infizierten Tabakpflanzen unterscheidet.

Zusammenfassung

Gegen das Bukett-Virus (*Solanum*-virus *deformans* Köhler), das Pseudo-Aucuba-Virus (*Solanum*-virus *pseudoaucuba* Köhler) und gegen das echte Tabak-Ringspot-Virus (*Annulus tabaci* var. *Virginiensis* H.) wurden Seren hergestellt und die Veränderungen der Konzentrationsverhältnisse dieser drei Viren während des Krankheitsverlaufes auf Tabak nach der serologischen Methode geprüft. Die Ergebnisse stehen in gutem Einklang mit den Theorien und Hypothesen über den Krankheits- und äußeren Gesundungsverlauf der Tabak-Ringflecken-Viren auf dieser Wirtspflanze. Bukett- und Pseudo-Aucuba-Virus sind nach ihren serologischen Eigenschaften und ihrem Verhalten im Prämunitätsversuch nicht als selbständige Arten, sondern als Stämme einer Art anzusehen. Sie lassen sich aber serologisch im Absättigungsversuch differenzieren und sind auch symptomatologisch unterscheidbar.

Serologische Verwandtschaftsbestimmungen und Prämunitätsversuche mit den beiden aus Kartoffel gewonnenen Ringspot-Isolaten und dem echten Tabak-Ringspot-Virus ergaben nur geringe verwandtschaftliche Beziehungen. Nach anderen übereinstimmenden Eigenschaften, insbesondere auf Grund des Krankheitsverlaufes auf Tabak, sind das Bukett- und Pseudo-Aucuba-Virus möglicherweise als Varianten einer besonderen Art des Tabak-Ringflecken-Virus anzusehen.

Literaturverzeichnis

1. Ching, C. P. and Zaumeyer, W. J., 1952: A new strain of Tobacco ringspot virus isolated from Bean. Plant Dis. Reporter **36**, 459—465.
2. Desjardins, P. R., Senseney, C. A. and Hess, G. E., 1953: Further studies on the electron microscopy of purified tobacco ringspot virus. Phytopathology **43**, 687—690.
3. Gehring, F. und Bercks, R., 1956: Untersuchungen über das Bukett- und Pseudo-Aucuba-Virus der Kartoffel. Phytopath. Z. **27**, 215—234.
4. Henderson, R. G. and Wingard, S. A., 1931: Further studies on tobacco ringspot in Virginia. J. Agr. Res. **43**, 191—207.
5. Holmes, F. O., 1948: The filterable viruses. Bergey's manual of determinative bacteriology, 6. Aufl., Suppl. 2, Baltimore.
6. Johnson, J. and Grant, T. J., 1932: The properties of plant viruses from different host species. Phytopathology **22**, 741—757.
7. Knight, C. A., 1955: Are cucumber viruses 3 and 4 strains of tobacco mosaic virus? A Review of the problem. Virology **1**, 261—267.

8. Köhler, E., 1940: Das Tabak-Ringspot-Virus als Erreger einer Gelbfleckigkeit des Kartoffellaubes. Angew. Bot. **22**, 385—399.

9. — —, 1952: Die Bukettkrankheit, eine Viruskrankheit der Kartoffel. Phytopath. Z. **19**, 289—294.

10. — —, 1954: Die Bukettkrankheit. Handb. d. Pflanzenkrankh. Bd. **II**, 568 u. 655. Paul Parey, Berlin.

11. — —, 1954: Falsches Kartoffel-Aucuba. Handb. d. Pflanzenkrankh. Bd. **II**, 568 u. 658, Paul Parey, Berlin.

12. — —, 1955: Über weniger bekannte Kartoffelviren. Proc. 2nd Conf. Potato Virus Diseases, Lisse-Wageningen 1954, 148—152.

13. Pfankuch, E., und Kausche, G. A., 1938: Über Darstellung, Eigenschaften und quantitative Bestimmung von Tabakmosaikvirus und Kartoffel-X-Virus und ihre physiko-chemische Differenzierung. Biochem. Z. **299**, 334—345.

14. Pierce, W. H., 1934: Viroses of the bean. Phytopathology **24**, 87—115.

15. Price, W. C., 1936: Virus concentration in relation to acquired immunity from tobacco ring-spot. Phytopathology **26**, 503—529.

16. — —, 1936: Specifity of acquired immunity from tobacco ring-spot diseases. Phytopathology **26**, 665—675.

17. — —, 1940: Comparative host ranges of six plant viruses. Amer. J. Botany **27**, 530—541.

18. — —, 1940: Thermal inactivation rates of four plant viruses. Arch. ges. Virusforschg. **1**, 373—386.

19. Stanley, W. M., 1939: The isolation and properties of tobacco ring spot virus. J. Biol. Chem. **129**, 405—428.

20. Steere, R. L., 1956: Purification and properties of Tobacco ringspot virus. Phytopathology **46**, 60—69.

The Affinity of Potato Virus Y Infected Potato Tissues for Dilute Vital Stains

K. O. Müller[1]) and J. Munro[2])

With 3 figures

Since Pfeffers work on the affinity of Methylene Blue for living plant tissue (10) vital staining techniques have been commonly used in cyto-physiological investigations, but comparatively little use has been made of them in phytopathology. Meyer (6) studied the pre-necrotic changes of potato tuber tissues infected with the strains of *Phytophthora infestans* known to differ in virulence in various hosts. He used Rhodamine B and Neutral Red at concentrations that ranged between 4 and 20 p. p. m. Bode (2) also used Rhodamine B, and other fluorescent stains at higher concentrations in his work with leaf-roll infected potato plants. He showed that pre-necrotic changes in phloem could be detected earlier in this way than was possible by the HCl-Phloroglucinal method.

This paper reports on a study of the affinity of a basic vital stain for potato tissues infected with strains of virus Y.

Materials and Methods

Eight commercial potato varieties and eight potato seedlings were used as host plants for this work. The seedlings had been produced and selected by K. O. Müller at Berlin-Dahlem. Of these seedlings, the "A" series and F 777 derive from the "9809" breeding line (7), and the other two, 5/31 and 36/33 were bred from W varieties (8). All of these seedlings were shown to be outstanding in their resistance to virus Y by field trials conducted in Germany before 1944.

The strains of virus Y, except for Y 2 and Y 3, were isolated from plants of commercial potato varieties growing in the field. Strains Y 2 and Y 3 were obtained from Dr. W. R. S. Wortley of the Commonwealth Potato Station, Cambridge. The strains will be referred to as Y 1, Y 2, and

1) Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Division of plant Industry, Canberra A. C. T., Australia.

2) Department of Agriculture, Division of Botany and Plant pathology, Fredericton, N. B., Canada.

so on to Y 16 (MUNRO, 1954). They bear no relation to any similarly named strains in the work of BAWDEN and KASSANIS (1). For inoculation purposes the strains of the virus were maintained in young White Burley tobacco plants.

The potato plants were raised in four-inch pots from cubic centimetre setts. Each sett bore only one eye and each plant was allowed to develop only one stem. Inoculations were made when the potato plants were about five inches high, by rubbing centrally placed leaves with the forefinger wetted with infective sap from macerated tobacco leaves, after the potato leaves had been dusted with 400 mesh carbonrundum. Non-inoculated plants were used as controls.

The three stains used in this work, Rhodamine B, Neutral Red and Brilliant Cresyl Blue, were all equally effective when used at concentrations of 5 p. p. m. in distilled water, but the results for Rhodamine B stain only are reported here. The tests were carried out in the following way: Transverse hand-cut sections of stems and petioles were placed into petri dishes and the bottoms of the dishes just covered with the stain solution. Not more than ten stem sections were placed in any one dish because tissues that are severely affected by this virus take up relatively large amounts of the stain. After an interval that varied from six to eighteen hours each section was examined microscopically for reaction to the stain at a magnification of about 500 ×.

Affinity to vital stain will be referred to as AVS.

Experimental Results

At the concentration of 5 p. p. m. only lignified tissues (xylem and sclerenchyma) and the cuticle of the epidermis accumulated visible amounts of stain in healthy potato plants. But when a strain of virus Y caused tissues, such as collenchyma, phloem, and parenchyma to become necrotic, the use of vital stains at this concentration gave an indication that pre-necrotic changes had taken place.

The following degrees of AVS were observed in single cells

(1) Cell walls lightly stained; cells turgid.

(2) Cell walls and protoplasm brightly stained, majority of cells turgid.

(3) Cells collapsed and collapsing, and deeply coloured to a brownish shade.

Similarly, the dispersal of AVS in the infected host tissues could be distinguished in three main groups.

I No AVS response by any tissues.

II Only collenchyma responsive to vital stains; in varying degrees.

III Both collenchyma and phloem, and usually adjacent parenchyma, acquire AVS to varying degrees.

Plants which were used as controls, frequently showed irregular staining of phloem and parts of parenchyma after they passed flowering and showed the first symptoms of maturity. Here increased AVS is obviously the result of ageing. Consequently only results obtained from test series of which the control plants did not show increased AVS, were regarded as significant.

First Year of Infection (Primary Symptoms)

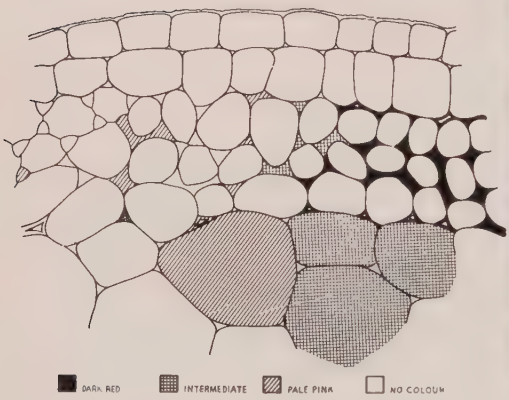


Fig. 1. Reaction of stem collenchyma of a *Katahdin* plant infected with Y 4.
Stain used: Rhodamine B

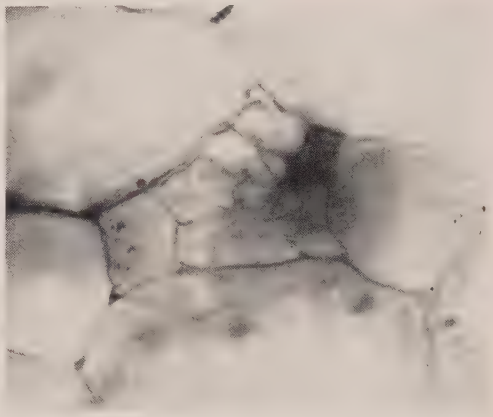


Fig. 2. Internal phloem showing first staining. Variety: *Aquila;* Virus strain: Y 7;
Stain used: Brilliant Cresyl Blue

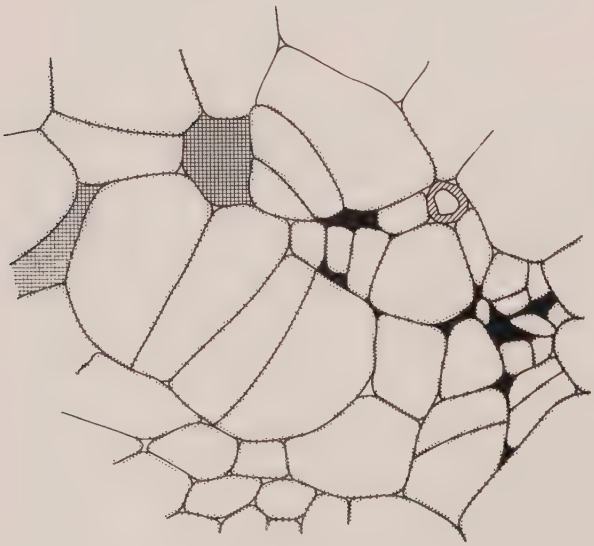


Fig. 3. Reaction of the phloem tissue of a *President* plant infected with Y 7.
Stippled cell walls showed AVS; Stain used: Rhodamine B

Stems. When the plants react with systemic necrosis to a virus Y infection the collenchyma, the phloem and parts of the parenchyma and epidermis are aquiring AVS. The reaction of the collenchyma cells is shown in figure 1. In the phloem tissue, usually AVS was first observed in that part where there are sieve tubes and companion cells (figure 2). Later it may develop in other parts of the phloem tissues and in the adjacent parenchyma (fig. 3). In this particular

plant the parenchyma developed an internal wound periderm around the decaying phloem tissue.

The intensity of staining of various tissues depends upon the host-virus strain combination and the node or internode from which the sections were taken. In table 1 the staining of the collenchyma and the phloem is

Table 1

AVS of stem tissues of a Katahdin plant
Virus strain: Y 11 Incubation time: 41 days

	Internodes		Type of Tissue		
	No.	Length (mm.)	Collenchyma	Phloem	Parenchyma
Base of the plant → Top	1	30	+	—	—
	2	50	++	+	—
	3	9	+/++	±	—
	4	32	++	+	±
	5	109	++	±	—
	6	30	±	±	
	7	51	+		
	8	49	+	—	—
	9	18	±		
	10	19	±	—	—
	11	11	±	—	—
	12	4	—	—	—

Key: — = No staining.
± = Slight staining of single cells
+ = Staining of cell groups.
++ = Large tissue areas intensively stained.
+++ = Large areas collapsed and intensively stained.

shown to be strongest in the sections taken from the internodes adjacent to the inoculated leaves. But in the upper parts of the stem, only the collenchyma was responsive to the stain. However, in other host-virus strain combinations the response of the collenchyma in upper parts of the stem was less than that of the adjacent phloem as shown in table 2. Although there is an indication in this table of a general correlation between the intensity of staining in the collenchyma and in the phloem, there were some deviations. The upper internodes of plants infected with Y 8, Y 9 Y 12 and Y 14 showed clear AVS of the phloem, but the adjacent collenchyma tissues were unstained. But in plants infected with Y 11, the reverse was observed, and here the collenchyma accumulated considerable amounts of the stain, whilst the phloem remained unstained in all parts of the stem.

Although the phloem alone was found to possess AVS in stem sections of several host-virus strain combinations, in no combination was there a

Table 2

Correlation between AVS of collenchyma and of phloem in different parts of the stem

Variety: President Virus strains: Y 1, Y 8 ..... Y 15

		Collenchyma				
		—	±	+	++	+++
Phloem	—	10 t, 11 t 10 m, 10 b			11 m	11 b
	±	9 t, 14 t	1 t, 5 t			
	+	8 t, 12 t	13 t, 9 m 13 m, 13 b	8 m	1 m, 14 b	
	++		9 b	1 b	14 m, 15 m	12 m, 15 b
	+++					8 b, 12 b

See Key in Table 1.

Numbers refer to the Y strains;
b — internodes at base of plants
m — internodes adjacent to inoculated leaves
t — internodes at top of plants

stain response from phloem in which the collenchyma remained unstained throughout the whole plant. But in many of the host-virus strain combinations, there was AVS of collenchyma when it was not observed in the phloem, and others, such as, varieties British Queen and Home Guard, failed to acquire AVS in either collenchyma or phloem.

Table 3

Correlation between AVS of stems and of petioles (inoculated leaf)

Host: A 1695

Virus strains: Y 1 .... Y 9, Y 11 .... Y 15

AVS of Petioles	AVS of Stems (middle parts)		
	I	II	III
I	Y 1, Y 2 Y 3, Y 4		
II	Y 6	Y 12 Y 14	Y 13
III	Y 9		Y 5, Y 7 Y 8, Y 11 Y 15

Petioles. The same classifications to determine the intensity and distribution of AVS was used for both stems and petioles. Table 3 shows the AVS of both stems and petioles of seedling A 1695 after inoculation with 14 strains of virus Y, and a correlation between the reactions of the two parts of the plants. However, one clear exception has been found; in response to Y 9 the petioles exhibited a strong AVS, but in stem sections no staining of either collenchyma or phloem was observed.

The sister seedling A 1680 is shown in table 4 to have reacted in a similar way to the same virus Y strain. Such "irregularities" were found, almost without exception, in plants that had reacted with necrotic lesions or veinal necrosis of the leaflets. In table 4 the correlation between AVS of the stem tissues and the petioles is not so close, and quite a number of host-virus strain combinations showed AVS of stems, but not of petioles.

Table 4

AVS of stems and petioles of commercial varieties and seedlings after inoculation with different Y strains (55 combinations)

AVS of Petioles	AVS of Stems (middle Parts)		
	I	II	III
I	AV (1, 2, 3, 4 & 13) BD (5) KA (3) A 1680 (1) A 2077 (7 & 12) F 777 (1, 6, 7 & 13) 5/31 (6 & 7)	AQ (2) AV (4, 5, 7, 11, 12 & 14) KA (4) PI (1 & 6)	AP (1) AV (6 & 8) KA (7) PR (4) A 1680 (4, 8 & 15)
II		AP (2 & 6) AV (9) KA (1) 5/31 (12)	AQ (16) A 1680 (13)
III	A 1680 (9)		AP (7) AQ (6, 7 & 12) AV (10 & 15) PR (2, 7, 8, 14 & 15) A 1680 (7, 11 & 12)

Figures in brackets designate the Y strains used.
Abbreviations:
AP — Arran Peak
AQ — Aquila
AV — Arran Victory
BD — Ballydoon
KA — Katahdin
PI — Arran Pilot
PR — President

Grafts. When plants that were under test for top-necrosis to strains of virus Y were examined for AVS, it was found that the axillary shoots also acquired AVS III before there was any visible evidence of necrotic breakdown. The main stem of the stock also showed an AVS of the collenchyma and the phloem, but the staining was more localized and weaker than in the axillary sprouts.

Correlation between AVS and plant symptoms. Despite the external factors that can modify symptom expressions, there is a clear correlation between the symptoms of plant disease and the AVS. This can be observed in table 5. When symptoms were non-necrotic AVS

of stem tissue was not observed, nor did it appear to be present when the necrotic reactions were local, but when streak symptoms appeared on the stems, AVS II or III had already been observed in the stem tissues. But all AVS responses were not followed by visible stem necrosis. Plants of the variety British Queen inoculated with Y 1, and of seedling 5/31 inoculated with Y 12, did not develop necrotic lesions in the stems, but staining of the stem collenchyma was observed (table 5). However, the strongest AVS invariably preceded a lethal necrosis, and AVS III appeared soon after inoculation.

Table 5

Clinical reaction of plants and AVS of their stems (middle part) in the year of infection

(26 combinations)

Leaves	Mosaic	Severe Mosaic[1])	Necrotic Lesions	Some Veinal Necrosis[2])	Veinal Necrosis & Leaf-Drop	Leaf-Drop Streak	Lethal Necrosis
Stem	No symptoms	No symptoms	No symptoms	No symptoms	No symptoms	Streak	
AVS I	AQ (6)	AQ (2)	A 1680 (1) A 1695 (1) F 777 (1, 7 & 13) 36 — 33 (1)	A 2077 (1, 7 & 12) 5/31 (7)	A 1680 (1) A 1736 (1)		
AVS II					5/31 (12)[3])	AQ (1 & 3) 5/31 (1 & 6)	
AVS III						UP (6) A 1494 (7) A 1680 (7) A1695 (7 & 16) A 1736 (7)	AQ (7 & 12)

[1]) With or without crinkling.
[2]) Often combined with chlorosis.
[3]) AVS rather weak.
See Table 4 for other abbreviations of varietal names
UP — Ulster Prince

Second Year of Infection (Secondary Symptoms)

As shown in table 6, there is also a correlation between AVS and symptom expression in plants with the secondary symptoms of virus Y infection. But there is a difference between the results recorded in table 5 and those recorded in table 6. The plants with severe symptoms caused in the year of infection invariably followed AVS III with stem necrosis, but three host-virus strain combinations with secondary symptoms of infection without stem necrosis also showed AVS III.

Table 6

Clinical reaction of plants and AVS of their stems (middle part) in the year after infection

(26 combinations)

(Plants from progeny of Table 5)

Leaves	No symptoms	Mosaic	Severe Mosaic	Leaf-Drop-Streak	Lethal Necrosis
Stem	No symptoms	No symptoms	No symptoms	Necrotic Lesions (Streak)	
AVS I	AQ (7 & 12) A 1494 (7) A 1680 (1 & 7) A 1695 (1,7 & 16) A 1736 (1) A 2077 (1, 7 & 12) F 777 (1, 7 & 13) 5/31 (6, 7) 36/33 (1)				
AVS II		5/31 (1 & 12)[2]	AQ (1 & 3) A 1736 (7)		
AVS III			AQ (2 & 6) A 1695 (16)	A 1680 (7)	AQ (7 & 12) UP (6) A1695(7)

[1]) AVS rather weak.

Several commercial varieties showed a close correlation between AVS in the year of infection, and in the subsequent year. This can be seen in table 7 where the intensity of AVS in the stem collenchyma of Arran Victory is recorded for both years. In other varieties, however, correspondence of the results obtained in the different years was incomplete. This occurred mainly in seedlings which had been selected for resistance to virus Y in field tests, and is illustrated for three of them in table 8. Whilst

Table 7

Correlation between AVS of stem collenchyma (middle part) in the year of infection and in the succeeding year

Variety: Arran Victory Virus strains: Y 1 .... Y 10, Y 12 .... Y 15

		Year of Infection		
		—	±	+
Second Year	—	Y 1, Y 2, Y 3	Y 5, Y 9	
	±		Y 6[1])	
	+		Y 4	Y 7, Y 10[1]) Y 14, Y 15
	++			Y 8, Y 12[1])

[1]) Some staining of the phloem in sections from the basal part of the stem was observed in the first year; in the next year phloem failed to accumulate the stain.

the response of the stem tissues of seedling 5/31 to vital stains was the same in both years, this was not so with Aquila and A 1695. Some individual plants, progenies of Aquila Y 7 and Y 12 and of A 1695 Y 7, showed AVS III followed by lethal necrosis, but others failed to show any AVS response and appeared to be healthy. These symptomless plants in fact were all found to be virus-free when tested by inoculation to tobacco, except for two progenies of one A 1695 plant that had been inoculated with Y 6.

Table 8

AVS of stem tissues in three hosts in year of inoculation and in the following year

Combination		First Year			Second Year		
Host	Y Strain	Coll.	Phloem	Parench.	Coll.	Phloem	Parench.
AQ	7	+++	++	++	+++ (2) — (3)	++ (2) — (3)	+++ (2) — (3)
	12	+++	++	++	+++ (3) — (2)	++ (3) — (2)	++ (3) — (2)
5/31	7	—	—	—	—	—	—
	12	±	—	—	+	—	—
A 1695	7	++	++	+	++ (1) — (4)	++ (1) — (4)	+ (1) — (4)
	12	+++	++	+	—	—	—

Of each combination, five plants were raised in the second year; number of plants in brackets.

Discussion

In using basic stains at concentrations of about 5 p. p. m. it was possible to determine the speed with which necrosis occurs in Y virus infected potato tissues. The earlier the affinity to the stains was observed, the earlier the destruction of the host cells became visible. Since the same stains can be also used to determine necrosis caused by other pathogens, the reaction is an unspecific one which reflects only a state of cell injury, its value being in the determination of necrotic changes before the effect of the pathogen becomes clinically visible.

Throughout this work there appeared a clear connection between the external symptoms and the reaction of the host tissues to the stains. Varieties and seedlings that only reacted with mosaic during the year when infection occurred, did not show AVS. Whenever streak symptoms appeared on the stem of the host, sooner or later AVS was observed.

There were differences in degree of AVS depending on host and virus strain used. Furthermore differences between the various tissues of the host plant became apparent. As a rule, the collenchyma reacted more

readily than the phloem. Staining of both collenchyma and phloem invariably preceded lethal necrosis.

Individual plants of progeny from hosts that had succumbed with lethal necrosis were also destroyed in a similar way, yet others failed to show any stain response and were healthy, a fact which has been reported already by HUTTON (3, 4) and by KÖHLER (5). When the progeny of plants which had severe mosaic symptoms without stem necrosis were examined, invariably there was AVS of collenchyma or both collenchyma and phloem.

The MÜLLER seedlings which were used in this work were known nearly 20 years ago to be resistant to natural infection by the common field strains of virus Y in Germany (7). When they were separately infected with each virus Y strain used in this work by rubbing inoculation, each reacted with at least one strain to a local or lethal necrosis which gave either AVS I or AVS III in the stem. Seedlings which responded with only local lesions on their leaves, gave progeny which never showed any AVS response and were found to be healthy by subsequent tests. HUTTON also produced seedlings which reacted histologically in a similar way. This author, however, had used the HCl-Phloroglucinol method for tracing the necrotic changes in the affected tissues.

From the results described it becomes evident that affinity to the vital stains used reflect different degrees of sensitivity of the l o c a l tissue to the action of the various Y virus strains and not of the plant as a whole. Like many other staining reactions, the method described when used in diagnosis must therefore be applied with due caution. Its value refers only to purposes of differential diagnosis. For instance, phloem of potato plants diseased with leaf roll virus also at low concentrations shows affinity to the stains used.

According to the 'clinical picture', the symptoms of Y virus infection in potato are generally arranged in the following order of increasing severity, only the last two types showing regularly affinity of stem tissues to vital stains:

> Necrotic lesions — slight mosaic — mottle — veinal necrosis — leaf drop/streak — lethal necrosis.

On the other hand, if the symptoms are arranged in order of the probability of infection being carried to the tuber, a different sequence is found, with 'necrotic lesions' and 'veinal necrosis' occurring at the end of the series. This difference reflects, to quote GÄUMANN ('Principles of Plant Infection', London 1950), that in "everyday usage 'disease' is a clinical and not a biological concept" and disappears if we approach the problem from a biological point of view. Virus multiplication takes place only in living host cells, that is to say, if the infected tissue 'tolerates' the virus for a certain length of time. We may therefore assume that the earlier increased affinity to the stains is observed, the earlier virus multiplication ceases.

The extreme types then would be 'necrotic lesions' and 'veinal necrosis'. In these cases the output of virus by the infected leaf area appears to be so low that the adjacent part of the stem is not reached by the virus in concentrations sufficient to give vital stain reactions in the collenchyma or phloem. This conclusion is supported by grafting-experiments which showed that new shoots of stocks of varieties reacting with necrotic lesions succumb with lethal necrosis if grafted with a virus carrier reacting to the given Y strain with mild mosaic. At the other end of the series there would be the 'symptomless carrier'[1]) which shows likewise no AVS. Thus the intermediate members of the series which react with lethal necrosis, leaf drop-streak or severe mottle represent the actual 'disease'.

Summary

Basic vital stains (Rhodamine B, Neutral Red and Brilliant Cresyl Blue) were advantageously used to determine the speed with which individual potato tissues (collenchyma, phloem and parenchyma) respond to Y virus infection with necrotic changes.

Independent of the host/virus strain combination, there is good correlation between symptom expression and the reaction of the tissues to vital staining. The stem tissues of plants which reacted with local lesions or only with mosaic, showed no increased affinity to the vital stains used. Those which reacted with systemic necrosis showed soon after inoculation affinity for vital staining of both the collenchyma and phloem, before any striking pathological changes of the individual tissue could be observed.

The reaction to the vital stains used is unspecific. For instance, it can be applied also for detecting premortal changes in the phloem of leaf roll diseased plants.

The response of infected tissues to vital staining was greatest in many varieties which are known from field trials to be fairly resistant to Y virus disease and in seedlings which had been selected for Y virus resistance after assessing their reaction in field tests. This result lends further support to the idea that resistance of potato to Y virus is due mainly to 'suprasensitivity' to individual Y virus strains.

Zusammenfassung

Basische Vitalfarbstoffe (Rhodamin B, Neutral Rot und Brilliant Cresyl-Blau) eignen sich zum Nachweis prämortaler Änderungen in den Stengelgeweben von Kartoffelpflanzen, die mit dem Y-Virus infiziert sind. Die beschriebene Methode ist einfach und besteht darin, daß Stengelquerschnitte

[1]) In the case of Y virus and potato this extreme type has not yet been found.

für drei Stunden in eine schwach konzentrierte wässerige Lösung des Farbstoffes eingetragen werden. Differenzierung ist optimal bei Anwendung von Konzentrationen um 5 p.p.m.

Unabhängig von den jeweilig vorliegenden Wirt-Virusstamm-Kombinationen besteht eine enge Korrelation zwischen den Ergebnissen des Färbungstestes und dem Krankheitsbild der Pflanzen. Bei Pflanzen, die auf den Infekt nur mit Mosaik oder mit lokalen Nekrosen reagieren, tritt weder Anfärbung des Kollenchyms noch des Phloems ein. Relativ große Mengen des Farbstoffes hingegen werden von den beiden Gewebearten und dem angrenzenden Parenchym gespeichert, wenn die Pflanzen mit systemischer Nekrosis reagieren.

Die Reaktion ist unspezifisch. Die angewendete Methode kann auch zum prämortalen Nachweis von nekrotischen Veränderungen im Phloem blattrollkranker Pflanzen benutzt werden.

Sorten, die, nach Feldversuchen zu urteilen, mehr oder weniger resistent gegenüber dem Y-Virus sind, oder Sämlinge, die im Zuchtgarten auf Widerstandsfähigkeit gegenüber der „Strichelkrankheit" ausgelesen worden sind, reagierten, wenn infiziert, entweder mit starker Anfärbung von Kollenchym u n d Phloem, oder der Test fiel völlig negativ aus. Letzterenfalls handelte es sich um Formen, die auf den Infekt mit lokalen Blattnekrosen reagierten. Dieses Ergebnis ist eine weitere Stütze für die Auffassung, daß „Feldwiderstandsfähigkeit" gegenüber dem Y-Virus weitestgehend auf Suprasensitivität beruht.

Acknowledgments

The work described was carried out at the National Institute of Agricultural Botany, Cambridge. We wish to acknowledge the technical assistance of Miss M. Kostrwicka in the preparation of experimental material.

Literature cited

1. Bawden, F. C. and Kassanis, B., 1947: The behaviour of some naturally occurring strains of potato virus Y. Ann. Appl. Biol. **34**, 503—516.
2. Bode, O., 1947: Beitrag zum frühzeitigen Nachweis der Blattrollkrankheit der Kartoffel durch Anfärbung des Phloems. Festschrift O. Appel, Biol. Ztrlanst. Berlin-Dahlem, **34—36.**
3. Hutton, E. M., 1945: The relationship between necrosis and resistance to virus Y in the potato. Journ. Counc. Sc. Ind. Res. **18**, 219—224.
4. — —, 1948: Some factors affecting localized and systemic reactions to virus Y in the potato. Austr. J. Sci. Res. **B I**, 416—438.
5. Köhler, E., 1955: Weitere Beiträge zur Kenntnis des Y-Virus der Kartoffel. Phytopath. Z. **23**, 328—334.

6. Meyer, G., 1939: Zellphysiologische und anatomische Untersuchungen über die Reaktion der Kartoffelknolle auf den Angriff der *Phytophthora infestans* bei Sorten verschiedener Resistenz. Arb. a. d. BRA. **23**, 97—132.

7. Müller, K. O., 1939: Über die Abbauresistenz der Kartoffel und die Züchtung abbaufester Kartoffelsorten. Z. Pflanzenzüchtung **23**, 1—19.

8. — —, 1951: Über die Herkunft der W-Sorten, ihre Entwicklungsgeschichte und ihre bisherige Nutzung in der praktischen Kartoffelzüchtung. Z. Pflanzenzüchtung **29**, 366—387.

9. Munro, J., 1954: Strains of potato virus Y in relation to potato varieties. Proc. 2nd Conf. Pot. Virus Diseases (Lisse-Wageningen), 102—106.

10. Pfeffer, W., 1886: Über die Aufnahme von Anilinfarben in lebenden Zellen. Unters. Bot. Inst. Tübingen **2**, 179.

Aus der Biologischen Bundesanstalt,
Institut für landwirtschaftliche Virusforschung, Braunschweig

Zum Nachweis des Luzernemosaikvirus in Deutschland und Italien

Von

Ludwig Quantz

Mit 16 Abbildungen

Die perennierenden Futterleguminosen spielen eine bedeutende Rolle als Winterwirte zahlreicher Virosen, die von diesen Überwinterungsplätzen im Frühsommer auf die Kulturen von Erbsen, Bohnen und anderen Gemüsearten übertragen werden, wie dieses z. B. für das Scharfe Adernmosaik (*Pisum virus* 1 Smith) näher untersucht wurde (Quantz 1952). Bei diesen Feldbeobachtungen wurden seit 1950 auf Luzerneschlägen wiederholt virusverdächtige Krankheitsbilder angetroffen, die in vielen Fällen mit einer Mosaikfleckung der Blätter einhergingen. Die nähere Analyse dieser Luzernekrankheit führte zur Isolierung von Virusformen, die zu dem Luzernemosaikvirus oder *Medicago virus* 1 (Weimer) Smith zu stellen sind. Das Auftreten dieses Luzernemosaikvirus ist bislang in Deutschland, von einem Hinweis bei Klinkowski (1954) abgesehen, nicht näher bekannt geworden. Da das Luzernemosaikvirus unter den übrigen Leguminosenviren durch seinen weiten Wirtspflanzenkreis besonders hervortritt, dürfte sein Vorkommen in Deutschland von Interesse sein. In der ausländischen Literatur sind Schäden beispielsweise an Paprika, Kartoffeln, Buschbohnen, Erbsen und anderen Kulturgewächsen beschrieben. Unsere Versuche, das Mosaik von kranken Luzernepflanzen aus dem Freiland auf Testpflanzen im Gewächshaus mechanisch zu übertragen, waren trotz anfänglicher Schwierigkeiten wiederholt erfolgreich; untersucht wurde dabei Luzernematerial aus Nordwestdeutschland und in einem Falle aus Norditalien. Auch bei der Prüfung mosaikkranker wildwachsender Weißkleepflanzen wurde das Luzernemosaikvirus neben einer anderen Virusart angetroffen; eine solche Herkunft ist im folgenden mit untersucht worden.

Die Untersuchungen wurden teilweise durch eine Beihilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert, wofür auch an dieser Stelle der Dank ausgesprochen wird.

Material und Methoden

Die hier näher beschriebenen Isolate wurden in den Jahren 1952 bis 1955 von eingesandtem oder gesammeltem Material gewonnen und im läusefreien Gewächshaus auf Tabak (*Nicotiana tabacum* var. Samsun) oder anderen geeigneten Testpflanzen in Kultur gehalten. Die Übertragungen erfolgten in der üblichen Weise durch Einreiben des Preßsaftes kranker Pflanzen mit Glasspatel auf die vorher mit Karborund eingestäubten Blätter junger Testpflanzen. Im Laufe der mehrjährigen Kulturen fiel bei einigen Stämmen eine Verstärkung der Krankheitssymptome während der Wintermonate auf. Am eingehendsten wurde zunächst das 1953 aus italienischem Luzernematerial gewonnene Isolat L 508 untersucht. Insgesamt wurden folgende Virusisolate analysiert und dem Luzernemosaikvirus (LMV) zugeordnet:

L 508: Dieses Isolat stammt von einer kranken Luzernepflanze, die uns von Herrn Dr. P. GRANCINI vom Istituto di patologia vegetale in Milano zur näheren Untersuchung freundlicherweise übermittelt worden war[1]). Durch Pfropfung der kranken Originalpflanze auf gesunde Luzerne sowie durch erfolgreiche Saftübertragungen gewannen wir daraus im Sommer 1953 ein typisches Isolat des Luzernemosaikvirus.

Abb. 1. Natürliche Befallsbilder des Luzernemosaikvirus auf Luzerne (Oberes Bild von italienischem Material, phot. Dr. P. GRANCINI)

L 598: stellt ein Virus von einer Luzernepflanze dar, deren Fiederblätter ein Mosaikmuster aus silbrig-grauen, band- und ringartigen Zeichnungen trugen (Abb. 1 u. l.); der Fundort war ein mehrjähriger Luzerneschlag im Kreis Wolfenbüttel (Niedersachsen); das Virus wurde am 6. August 1954 über *Nicotiana glutinosa* isoliert.

L 599: Dieses Isolat wurde von Luzerne der gleichen Herkunft von Blättern mit kalikoartigen, gelblichgrünen interkostalen Aufhellungen am 6. August 1954 in Kultur genommen.

L 600: wurde von einer kräusel- und mosaikkranken Luzernepflanze gleicher Herkunft wie die beiden vorhergehenden isoliert (Abb. 1 u. r.).

L 734: Dieses Isolat stammt aus einer eingesandten verdächtigen Luzernepflanze aus dem Zuchtgarten des Max-Planck-Institutes für Züchtungsforschung in Scharnhorst bei

[1]) Herrn Dr. GRANCINI, Mailand, danke ich herzlich für das zur Verfügung gestellte Luzernematerial und die übermittelten Hinweise auf seine Freilandbeobachtungen in Norditalien.

Hannover (4. Juli 1955). Für die Übersendung des Materials danke ich Herrn Dr. HACKBARTH auch an dieser Stelle.

K 492: Dieser Stamm wurde von mosaikkrankem Weißklee (*Trifolium repens*) vom Wegrand des Versuchsfeldes der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Braunschweig am 23. Mai 1953 isoliert; der Stamm ging im Frühjahr 1954 verloren.

Experimentelle Ergebnisse

Das Symptombild auf Luzerne im Freiland

Das Krankheitsbild des Luzernemosaik im Freiland (Abb. 1) umfaßt gelbliche, unscharf begrenzte, kalikoartige Flecke, die oft in einer gewissen Entfernung von der Mittelrippe einsetzen und sich zum Rande hin erstrekken, sowie schmale parallele Streifen zwischen den Adern. Bei einer stärkeren derartigen Mosaikstreifung kommt es auch zu Kräuselungen und zu Deformationen der Blätter. Die chlorotischen Flecke bilden oft auch ring- und bandartige Muster, ihre Farbe bleicht zuweilen hellgelb bis fast weißlich aus. Die Mosaikmusterung ist auf den Blättern ungleich verteilt und nicht selten nur auf einzelnen Fiederchen eines Fiederblattes ausgeprägt. Die Hemmung des Gesamtwuchses befallener Pflanzen (Abb. 2) ist unterschiedlich, meist aber nur mäßig stark ausgeprägt. Bereits WEIMER (1931) und ZAUMEYER (1938) hatten darauf aufmerksam gemacht, daß die Mosaikkrankheit im Freiland auf Luzernepflanzen nicht zu allen Jahreszeiten gleichmäßig gut zu erkennen ist, jedoch besonders zur Zeit des Frühjahrsaustriebes vor dem ersten Schnitt und im zeitigen Herbst hervortritt. Während der warmen Sommermonate sind die Symptome häufig maskiert und treten nur bei schwerem Befall in Erscheinung. In Gewächshausversuchen gelangen Saftübertragungen zu Luzerne in der Regel nur schwer und blieben auch symptomatologisch schwach. Nach WEIMER (1934) war auch die experimentelle Infektion mit Blattläusen (*Illinoia pisi* Kalt. – *Acyrthosiphon onobrychis*) zeitweise schwierig und blieb in den Monaten Dezember bis Mai erfolglos. Kälte und hohe Temperaturen ließen die Symptome zurücktreten, am deutlichsten waren sie bei mäßigen Temperaturen etwa im Frühjahr.

Abb. 2. Mosaikkranke Luzernepflanze mit Stauchung und Kräuselerscheinungen

Wirtspflanzenkreis und Symptomatologie des Luzernemosaikvirus

Unter den Leguminosenviren fällt das LMV, wie erwähnt, durch seinen weiten Wirtspflanzenkreis auf, zu dem auch zahlreiche Pflanzenarten außerhalb der Leguminosen gehören. Zur Identifizierung wurde daher eine größere Zahl von Testpflanzen aus verschiedenen Familien geprüft.

Die folgende Symptombeschreibung stützt sich vorwiegend auf die Stämme L 508, L 734 und L 598 und wurde durch die Befunde mit den übrigen Isolaten von Fall zu Fall ergänzt.

Leguminosen:

Gartenbohne (*Phaseolus vulgaris* L.)

Auf den eingeriebenen Primärblättern der Bohne, z. B. der Sorten Genfer Markt, Saxa, Doppelte holländische Prinzeß, Furore, Wax Sure Crop, Full Measure, entstehen lokale, braune bis violettbraune Nekrosen in Gestalt rundlicher Flecken von 1/2 bis 2 mm Durchmesser (Abb. 3 l.). Die größeren haben einen helleren Kern und sind oft auch von einem konzentrischen Ring umgeben; die äußere Begrenzung ist etwas unregelmäßig und läuft in feine kurze Fortsätze aus. In manchen Fällen geht die Nekrose auch auf die angrenzenden Adern über.

Bei den meisten der untersuchten Virusstämme bleibt die Infektion der Bohnen auf diese lokalen Symptome beschränkt, wobei es allerdings zu einem

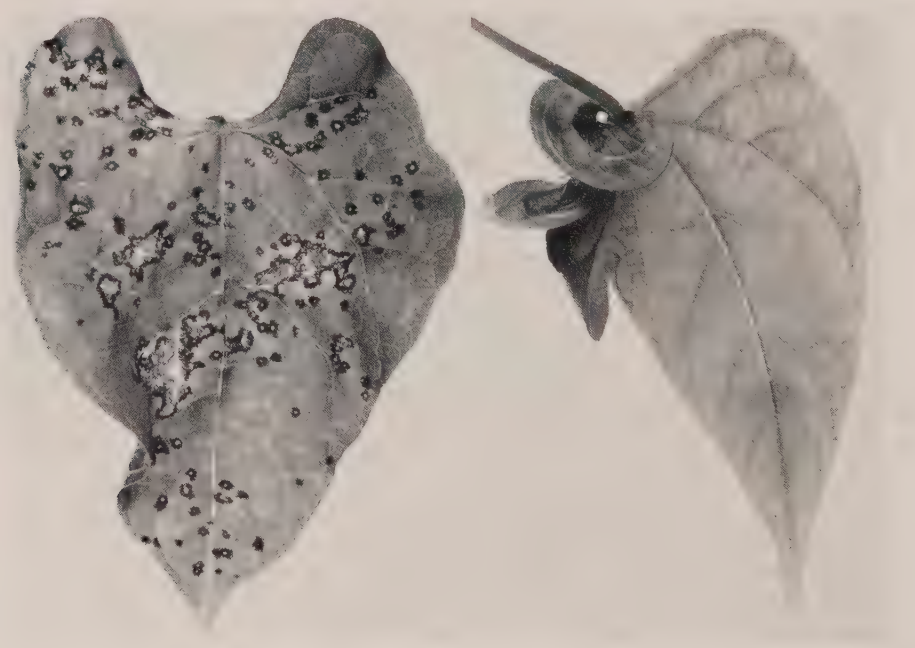


Abb. 3. Links: Lokale Nekrosen auf einem Primärblatt der Buschbohnensorte Genfer Markt (Isolat L 599). Rechts: Fiederblattkrümmung durch systemische Nekrose der Mittelrippen

Abwelken der inokulierten Primärblätter kommen kann; zuweilen folgt eine Bräunung der Blattstiele, die abwärts auf die angrenzende Stengelpartie übergreift, so daß bei jungen Pflanzen der Austrieb der Blattknospen gestört wird und die ganze Pflanze abstirbt. Gelegentlich — z. B. auf Doppelter holländischer Prinzeß — trat auch systemisch eine rotbraune Verfärbung einzelner Leitbahnen im Stengel oder auf einzelnen Fiederblättchen auf; derartige Nekrosen führten mitunter zu Deformationen oder Einrollungen einzelner Blättchen (Abb. 3 r.).

Abb. 4. Systemische Spitzennekrose auf Buschbohne (Saxa o. F.) durch das Luzernemosaikvirus (Isolat K 492 von Weißklee)

Eine stärkere Neigung zu systemischer Infektion besaß dagegen der von Weißklee isolierte Virusstamm K 492. Den lokalen Nekrosen folgten hier in der Regel systemische Bräunungen des Stengels und der Adern der nächsten entfalteten Blätter, verbunden mit Krümmungen des Triebes und der Blattfiedern; neben Fiedernekrosen wurde auch eine Nekrose der Triebspitze selbst beobachtet (Abb. 4). Manche Bohnenvarietäten (wie Bountiful, Idaho Refugee, Wax Sure Crop) blieben bei K 492 meist ohne lokale Nekrosen, zeigten später jedoch systemisch eine leichte chlorotische Fiederblattfleckung. Über ein ähnliches Verhalten der Sorte Bountiful berichteten Zaumeyer (1953) beim Luzerne-Gelbmosaik-Virus (*Marmor medicaginis* H. var. *flavescens)* und Thomas (1951) beim „yellow dot"-Virus (*Marmor medicaginis* H. var. *phaseoli*); allerdings wurden bei unserem Weißkleestamm keine gelben systemischen Fleckungen wie beim „yellow dot"-Virus beobachtet.

Ackerbohne (*Vicia faba* L. var. *minor*)

Infizierte Ackerbohnen zeigen lokale, verwaschene violettbraune Flecke und Ringbildungen, die teilweise von ringartigen Säumen umgeben sind. Die neugebildeten Blätter tragen eine leichte chlorotische Mosaikfleckung und gelegentlich auch zarte graugrüne, fast nekrotische Linien- und Ringmuster. Auf einer Pflanze traten später in einigem Abstand neben den Hauptadern bandartige, durchscheinende Flecke auf (Abb. 5). Sehr häufig bewirkte die Infektion eine schmutzige rötlichbraune Verfärbung des Stengels, ein Abwelken der Spitze und ein vorzeitiges Absterben der ganzen Pflanze.

Auf Erbse (*Pisum sativum*) ruft das LMV (Stamm L 508) ein leichtes grünes Mosaik hervor (Abb. 6), dem auf den unteren Teilen der Pflanze violette Stengel- und Adernverfärbungen und Strichel vorangehen können. In anderen Fällen sind die Adern schwach bräunlich gesäumt. Gelegentlich

Abb. 5. Transparente Mosaikstreifen auf Ackerbohne

Abb. 6. Luzernemosaikvirus auf Erbse

ließ sich das Virus aber auch von äußerlich nicht sicher erkrankten Erbsenpflanzen zurückgewinnen. Ähnlich reagierten auch Peluschke (*Pisum arvense*) und *Pisum melanocarpum.*

Weißlupine (*Lupinus albus* L.)

Die eingeriebenen Fiederblätter trugen bei L 508 nur einige lokale rundliche dunkelbraune Nekrosen von etwa 2 mm Durchmesser, bei anderen Isolaten kam es gelegentlich auch zu Stengelkrümmungen und Spitzen- und Knospennekrosen.

Luzerne (*Medicago sativa* L.)

Auf den jungen Blättern treten deutliche gelbgrüne, rundliche Chlorosen von 1/2 bis 1 mm Größe oder Adernaufhellungen mit leichten Blattkräuselungen auf. Auf älteren Blättern werden zeitweise diffuse gelblichgrüne Aufhellungen zwischen den Seitenadern angetroffen; häufig bleiben die Symptome aber maskiert.

Außer durch Saftübertragung konnte das LMV im Gewächshaus von kranken in gesunde Luzernepflanzen auch durch Pfropfung übergebracht werden.

Soja (*Soja max.*)

Nach einer leichten braunen Verfärbung der Adern eingeriebener Primärblätter wurde auf den später gebildeten Fiederblättern eine gelbgrüne Fleckung entlang der Adern beobachtet.

Gartenwicke (*Lathyrus odoratus* L.)

zeigte systemisch ein leichtes grünes Mosaik und teilweise eine hellere Säumung der Blattäderchen. Die Spitzenblätter blieben gestaucht und etwas gekräuselt, später trat eine Erholung des Spitzenwuchses ein.

Auf *Vigna sinensis* („Oeil noir") wurden auf den eingeriebenen Blättern braune, rundliche Nekrosen bis gut 1 mm Durchmesser angetroffen. Die neu

entfalteten Fiederblätter zeigten unsichere, mosaikähnliche Chlorosen und einzelne nadelstichgroße Nekrosen.

Gelber Steinklee (*Melilotus officinalis* Desr.)

Infizierte Pflanzen wiesen eine Adernaufhellung auf; das Virus konnte nicht rückübertragen werden.

Rotklee
(*Trifolium pratense* L.)

Die Blätter der allgemein etwas kümmernden Pflanzen bleiben kleiner und länger eingefaltet. Jüngere Blätter weisen Mosaikzeichnung (Abb. 7 r.) oder eine chlorotische Randaufhellung, gelegentlich auch bräunlich fleckige Verfärbungen an den Adern auf.

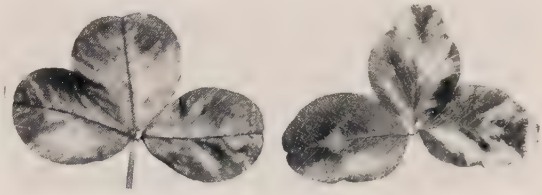


Abb. 7. Luzernemosaikvirus auf Weißklee (l.) und Rotklee (r.)

Schwedenklee (*Trifolium hybridum* L.)

Nach gelbgrünen, fleckweisen Adernaufhellungen haben später gebildete Blätter eine heller und dunkler grüne Streifung entlang den Seitenadern.

Weißklee (*Trifolium repens* L.)

Eine künstliche Infektion durch Saftinokulation gelang mit den Isolaten L 599 und L 734; nach gelegentlichen braunen lokalen Läsionen traten auf den später entfalteten Blättern leichte, besonders im Frühjahr aber auch leuchtende hellgelbe Chlorosen und Streifungen auf (Abb. 7 l.).

Inkarnatklee (*Trifolium incarnatum* L.)

reagiert mit Adernaufhellungen und zeitweise deutlichem Mosaik. Dabei sind vornehmlich die Bezirke zwischen den Blattadern gelblichgrün aufgehellt, das Adernnetz hebt sich besonders am Blattrand dunkelgrün davon ab. Kranke Kleepflanzen gingen während der Wintermonate leichter ein als gesunde.

Einzelne der genannten Virusisolate ließen sich noch auf die folgenden Wirtspflanzen erfolgreich übertragen: Linse (*Lens culinaris* Medik.), Gelbklee (*Medicago lupulina* L.), *Trifolium squarrosum*, Platterbse (*Lathyrus tingitanus*) und die Winterwicken *Vicia villosa* Roth. und *V. pannonica* Crantz.

Solanaceen:

Tabak (*Nicotiana tabacum* L. var. „Samsun")

Auf eingeriebenen Blättern werden runde oder ringförmige helle bräunlich-graue Nekrosen von 1 bis 2 mm Durchmesser gebildet; die neu entfalteten Blätter weisen eine deutliche, aber ungleich verteilte Mosaikzeichnung auf (Abb. 8). Die meist zwischen den Seitenadern liegenden Aufhellungen sind teilweise durch nekrotische Linien oder Ringe gesäumt und bewirken eine Kräuselung der Blattfläche. Vielfach tritt eine eichenblattartige chlorotische

Abb. 8. Mosaiksymptome drei verschiedener Isolate des Luzernemosaikvirus auf Samsun-Tabak (von links nach rechts: L 734, L 508 und L 598)

oder nekrotische Umsäumung der größeren Blattrippen auf. Die im einzelnen unterschiedlichen Symptome können auf einigen Blattetagen maskiert werden. Besonders schwere Symptome mit auffallenden Blattverkleinerungen und Deformationen auf Tabak wurden durch den Stamm L 734 hervorgerufen. Hierbei trafen wir auf den Blattunterseiten älterer Pflanzen häufig zwischen den Seitenadern saumartige Auswüchse oder Enationen an (Abb. 9). Diese ähneln den Bildungen, die HOLLINGS (1955) vom Tomato aspermy-Virus auf *Nicotiana tabacum* und *Nicotiana rustica* beschreibt. „White Burley"-Tabak reagiert auf das LMV ähnlich dem oben beschriebenen „Samsun"-Tabak mit lokalen Nekrosen und einem systemischen Mosaikmuster aus chlorotischen Fleckungen mit grauen nekrotischen groben Linien und Ringen.

Nicotiana glutinosa L.

Lokalen leichten Nekrosen folgt systemisch ein Mosaik mit interkostalen Chlorosen und teilweise ringähnlichen Nekrosen von etwa 3—8 mm Durchmesser. Mitunter fanden sich helle, fast weißlichgelbe, kalikoartige Fleckgruppen unregelmäßiger Gestalt (Abb. 10). Die rosafarbenen Blütenpetalen zeigten eine weißliche Scheckung.

Datura stramonium L.

Die Stämme L 508 und L 734 rufen lokal kleine bräunlichgraue Nekrosen hervor, die sich bei lockerem Auftreten zu größeren Flecken ausbreiten können; auf jüngeren Blättern entwickelt sich ein grünliches Mosaik mit nur leichten Nekrosen. Stamm K 492 bewirkte lokal vorwiegend chlorotisch bleibende Läsionen mit nur vereinzelten Nekrosen und systemisch ein grünes Mosaik.

Pfeffer (*Capsicum annuum* L.), „Hofmanns Aurora" und „Langer roter Cayenne".

Jung eingeriebene Pfeffer- und Paprikapflänzchen entwickeln deutlich deformierte und gekrümmte Blätter mit einem Mosaik aus hellen gelbgrünen

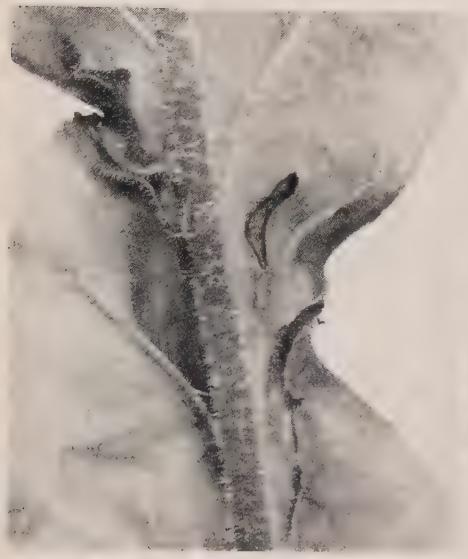
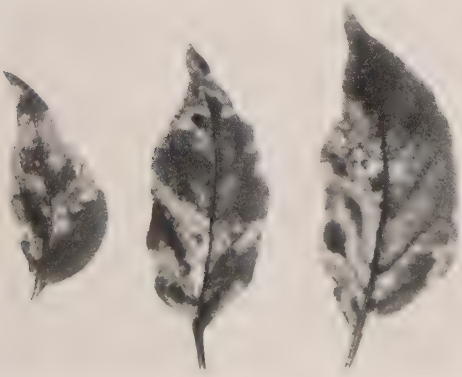


Abb. 9. Isolat L 734 auf Samsun-Tabak. Unterseite eines deformierten Blattes mit Enationen zwischen den Seitenadern

Abb. 10 (oben rechts). *Nicotiana glutinosa* mit kalikoartigen Blattflecken

Abb. 11 (unten links). Mosaiksymptome auf Paprika (Isolat L. 508)

Abb. 12 (unten rechts). Mosaikkranke Paprika mit Stauchung und Blattdeformationen; rechts: gesunde Kontrollpflanze



bogigen Streifen und Flächen, die zum Rande hin große Teile der Spreite bedecken und die dunkelgrüneren Partien bandartig einschließen (Abb. 11). Früh infizierte Pflanzen bleiben stark gestaucht (Abb. 12). Das Mosaikbild entspricht der von KOVACHEWSKY (1942 b) von Paprika beschriebenen Buntblättrigkeit, wobei jedoch in unseren Versuchen — im Gegensatz zu seinen — die Blattdeformationen und Pflanzenschädigungen sehr erheblich waren.

Anfällig war ferner Petunie (*Petunia hybrida*) mit leichtem Mosaik und Nekrosen, während Übertragungsversuche zu Tomate (*Lycopersicum esculentum*) und Tollkirsche (*Atropa belladonna*) keinen Erfolg hatten.

Cucurbitaceen:

Gurke (*Cucumis sativus* L.)

Auf diese Testpflanze ließen sich mehrere Stämme gut übertragen und riefen ein deutliches gelbgrünes Mosaik hervor; die jüngsten Blätter waren stark verkleinert und kraus. Ein Übertragungsversuch mit L 508 blieb negativ.

Compositae:

Zinnie (*Zinnia elegans* Jacq.)

Das LMV ruft ein chlorotisches Mosaik hervor, das zu leuchtend weißgelblichen Fleckungen führen kann (Abb. 13). Auch von undeutlich befallenen Sonnenblumen (*Helianthus annuus* L.) ließ sich das Virus zurückgewinnen.

Chenopodiaceen:

Chenopodium quinoa Willd.

Diese von USCHDRAWEIT (1955) als Testpflanze für das Gurkenmosaikvirus verwendete Meldenart reagiert auf das LMV mit einer systemischen Erkrankung (Abb. 14). Graue, nekrotisch werdende Lokalläsionen führen oft zu vorzeitigem Abfallen der eingeriebenen Blätter. Die höheren Blätter zeigen chlorotische, gelegentlich kalikoartige Aufhellungen und Blattkräuselungen. Die Pflanzen bleiben gestaucht und gehen zuweilen vorzeitig ein. Dieser systemische Befall kann als differentialdiagnostisches Merkmal zur Unterscheidung vom Gurkenmosaikvirus herangezogen werden, das nur charakteristische nekrotische Primärläsionen hervorruft, ohne systemisch zu werden. Infektionen auf Spinat (*Spinacea oleracea*) blieben latent.

Aizoaceen:

Neuseeländischer Spinat (*Tetragonia expansa* Murr.)

Auf den inokulierten Blättern entstehen kleine lokale, silbriggraue Nekrosen, die sich unregelmäßig ausbreiten und schwach grau umsäumt sein können, im allgemeinen aber nicht tiefer in das Blattgewebe eingesunken sind.

Schließlich wurden bei positiven Übertragungen zu *Clarkia* spec. (*Onagraceae*) systemisch ausgebreitete verwaschene gelbe Blattchlorosen beobachtet.

Der hier ermittelte Testpflanzenkreis des LMV steht in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Autoren, darunter auch mit der Wirtspflanzenliste bei PRICE (1940).

Abb. 13. Zinnie: Blattmosaik und hellgelbe Fleckung

Abb. 14. *Chenopodium quinoa* mit systemischem Befall durch das Luzernemosaikvirus

Chemo-physikalische Eigenschaften

Die Eigenschaften des LMV wurden in der üblichen, bereits an anderer Stelle (QUANTZ 1952) näher beschriebenen Weise von mehreren Isolaten ermittelt. Als Testpflanzen wurden dabei „Samsun"-Tabak und Buschbohnen verwendet. Das von Weißklee stammende LMV-Isolat (K 492) war durch ungünstige Wachstumsbedingungen der Wirtspflanzen in den Wintermonaten 1953/54 verlorengegangen, ehe die nähere Bestimmung der chemophysikalischen Eigenschaften durchgeführt werden konnte; es liegt von diesem Stamm nur eine Prüfung der Lebensbeständigkeit in vitro vor.

Der thermale Inaktivierungspunkt lag in mehreren Versuchen zwischen 55 ° und 60 ° C, gelegentlich reichte aber eine Erhitzung auf 60 ° C für 10 Min. noch nicht zur völligen Inaktivierung aus. Die Lebensbeständigkeit in vitro wurde mit Preßsäften von Samsun, Inkarnatklee und Ackerbohne ermittelt. Rohsäfte der Isolate K 492, L 508 und L 734 blieben bei Zimmertemperatur für 72 Stunden infektiös. Nach 96 Stunden wurden keine Infektionen mehr erzielt, mit Ausnahme eines Versuchs mit dem Isolat L 600, das auch nach 96 Stunden noch sehr vereinzelte Nekrosen auf den eingeriebenen Buschbohnenblättern hervorrief. Die Verdünnungsgrenze wurde für das Virusisolat L 508 geprüft und lag etwa zwischen 1 : 5000 und 1 : 10 000.

Diese Ergebnisse entsprechen den Befunden früherer Autoren, die für die verschiedenen Stämme des LMV allerdings oft unterschiedliche thermale Inaktivierungspunkte (um 55 °, häufiger um 62—65 ° C, gelegentlich auch um 70 ° C) ermittelten.

Prämunitätsversuche

Mit seinem weiten Wirtskreis hat das Luzernemosaikvirus manche Ähnlichkeiten mit dem Gurkenmosaikvirus (GMV), *Marmor cucumeris* Holmes, das ebenfalls auf Luzerne und Paprika im Freiland nachgewiesen wurde (KOVACHEVSKY 1942 a, DOOLITTLE und ZAUMEYER 1953). Zur Abgrenzung beider Viren wurde daher auch ihr Verhalten im Prämunitätstest herangezogen. Da sich die gewöhnlichen Stämme des GMV für diese Zwecke symptomatologisch nicht immer genügend deutlich vom LMV unterscheiden, wurde für die Prämunitätsversuche „Price's yellow indicator strain" des „Cucumber mosaic virus" (PYCMV) herangezogen. Dieser starke Gelbstamm des Gurkenmosaikvirus unterscheidet sich durch ein brillantes, leuchtend gelbgrünes Blattmosaik auf Tabak von den normalen Stämmen (PRICE 1934, HOLLINGS 1955). Der Gelbstamm wurde mir durch freundliche Vermittlung des Herrn Dr. BENDA, Universität von Californien, von Herrn Dr. M. HOLLINGS, Harpenden, England, überlassen. Für die Übersendung dieses Materials spreche ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichen Dank aus.

In den Prämunitätsversuchen wurden junge Tabakpflanzen der Sorte „Samsun" zunächst mit einem der zu prüfenden Viren inokuliert. Nach Ausbildung deutlicher systemischer Symptome dieses erstverimpften Virus — meist nach etwa 14 Tagen — wurde das zweite Virus auf die derartig erkrankten Tabakblätter verrieben. Zur Kontrolle wurden gleich alte, vorher nicht infizierte Tabakpflanzen ebenfalls mit dem zweiten Virus beimpft sowie einige Vergleichspflanzen der ersten Infektionsreihe ohne Zweitbeimpfung gelassen. Derartige Versuche wurden in wechselnder Anordnung durchgeführt, wobei zunächst Isolate des LMV zur Erstinokulion dienten (Tabelle 1 a). Diese

a b c

Abb. 15. Prämunitätstest zwischen LMV und GMV. Gurkenmosaik-Gelbstamm (a) mit und (b) ohne Vorinfektion durch das LMV. (c) Kontrolle: Abwehr des Gelbstammes durch Vorinfektion mit einem leichten Gurkenmosaikvirus-Stamm

Infektion der Testpflanzen mit dem LMV hatte in keinem Fall eine Schutzwirkung gegen das nachgeimpfte PYCMV zur Folge, vielmehr kam dieses stets — und zwar zumeist 100%ig — an den Spitzenblättern zum Durchbruch, wenn auch die Mosaikausbildung des PYCMV gelegentlich etwas weniger leuchtend und ausgedehnt war als auf nicht vorinfizierten Pflanzen. In einem Vergleichsversuch, in dem ein gewöhnliches Isolat des Gurkenmosaikvirus[1]) als erstes Virus aufgebracht worden war, konnte sich hingegen das nachgeimpfte PYCMV nicht etablieren (Tabelle 1 d und Abb. 15 c).

In weiteren Testen wurden Gurkenmosaikstämme zur Erstinokulation und das stärker nekrotische Luzerne-Isolat L 508 zur Zweitinokulation verwendet (Tabelle 1 b, c). Auch hier schützen GMV und PYCMV auf Samsun nicht gegen eine Zweitinfektion durch das Luzernevirus; lediglich die Anzahl der lokalen Läsionen des LMV war auf gurkenmosaikkranken Blättern etwas verringert. Wurden schließlich Isolate des LMV (L 508, L 598 und L 734) im Prämunitätsversuch wechselseitig getestet, so zeigten sie unter sich einen vollen Schutzeffekt. Tabelle 1 e gibt als Beispiel das Ergebnis der Kombination des L 598 mit dem symptomatisch stärkeren L 508 wieder.

Tabelle 1

Prämunitätsversuche zwischen Stämmen des Luzernemosaikvirus und des Gurkenmosaikvirus

(Testpflanze Tabak, Sorte „Samsun")

	Anzahl inokul. Pflanzen	Erstinokuliertes Virus	Zweitinokuliertes Virus	Auftreten des zweiten Virus	
				Pflanzenzahl	%
a)	5	Luzernemosaik (Isolat L 508)	Gurkenmosaik (Gelbstamm PYCMV)	5	100
	5	nicht inokuliert	Gurkenmosaik (Gelbstamm PYCMV)	5	100
b)	8	Gurkenmosaik (Gelbstamm)	Luzernemosaik (L 508)	8	100
	6	nicht inokuliert	Luzernemosaik (L 508)	6	100
c)	5	Gurkenmosaik (Isolat von Lupine)	Luzernemosaik (L 508)	4	80
	5	nicht inokuliert	Luzernemosaik (L 508)	5	100
d)	5	Gurkenmosaik (Isolat von Lupine)	Gurkenmosaik (Gelbstamm)	0	0
	5	nicht inokuliert	Gurkenmosaik (Gelbstamm)	5	100
e)	7	Luzernemosaik (Isolat L 598)	Luzernemosaik (L 508)	0	0
	3	nicht inokuliert	Luzernemosaik (L 508)	3	100

1) Das Isolat des typischen Gurkenmosaikvirus stammt von einer bräunekranken Lupine.

Das LMV erzeugt auf Buschbohnen lokale und teilweise auch systemische Nekrosen. Ähnliche Symptome können auf diesem Wirt auch durch ein Virus der Tabak-Ringspot-Gruppe[1]) (QUANTZ 1955) hervorgerufen werden, ferner durch einen Stamm des Tabaknekrosevirus, der die aus Holland und Deutschland beschriebene Stippelstreep-Krankheit der Gartenbohne erzeugt. Auf Tabak als Testpflanze wehrte das Luzernevirus ein nachgeimpftes Nekrosevirus nicht ab; ebensowenig vermochte ein Ringspot-Isolat von Buschbohne die Nachinfektion des Luzernemosaikvirus — auf *Datura stramonium* als Testpflanze — zu unterbinden.

Die Prämunitätsversuche sprechen einerseits dafür, daß die geprüften Isolate des Luzernemosaikvirus unter sich verwandt sind, andererseits darf gefolgert werden, daß keine nähere Verwandtschaft des LMV mit dem Gurkenmosaikvirus und mit den herangezogenen, von Gartenbohne isolierten Stämmen des Ringspotvirus und des Tabaknekrosevirus besteht, wie sich aus dem Fehlen der Schutzwirkung zwischen dem LMV und diesen Viren ergibt.

Vergleich des LMV mit einem Weißkleevirus

Im Freiland sind Mosaiksymptome auf Weißkleepflanzen (*Trifolium repens* L.) an Feld- und Wegrändern verbreitet zu finden. Bei der Untersuchung verschiedener mosaikbefallener Kleepflanzen haben wir mehrfach Viren isoliert, die von dem oben als Luzernemosaikvirus identifizierten Weißklee-Isolat K 492 deutlich verschieden waren. Derartige — unter sich weitgehend ähnliche — Virusformen untersuchten wir von wildwachsendem Weißklee (Abb. 16) aus der Gegend von Kassel (Juli 1951) und von Gelbklee (*Medicago lupulina* L.) und Schwedenklee (*Trifolium hybridum*) vom Stadtrand von Göttingen (September 1950). Das Kasseler Weißkleevirus (Isolat K 252) ist in der Tabelle 2 dem Weißklee-Isolat (K 492) des Luzernemosaikvirus vergleichend gegenübergestellt.

Abb. 16. Weißklee-Pflanzen mit natürlichem Befall durch das Weißkleevirus (Isolat K 252, Herkunft Kassel)

Das Weißkleevirus unterscheidet sich von dem Luzernemosaikvirus deutlich durch die Beschränkung seines Wirtspflanzenkreises auf die Leguminosen; zu den vom LMV befallenen Nichtleguminosen (Tabak, *Datura stramonium*, und Gurke) konnte das Weißkleevirus nicht übertragen werden. Auf Buschbohnen (Sorte „Saxa") entstanden auf den eingeriebenen Blättern vorwiegend chlorotische Läsionen; systemisch folgte eine Blattfleckung durch tupfen- oder fleckweise Aufhellungen des Äderchennetzes. Über die Wirtspflanzenreaktion hinaus unterschied sich das Weißkleevirus K. 252 auch in seinen Eigenschaften teilweise deutlich vom Luzernemosaikvirus. So wider-

[1]) Stamm des Kartoffel-Bukett-Virus oder *Solanumvirus deformans*, KÖHLER 1952.

Tabelle 2

Vergleich der Wirtspflanzenbereiche zweier Isolate des Luzernemosaikvirus mit dem Isolat K 252 eines Weißkleevirus

Testpflanze	Luzernemosaikvirus		Weißkleevirus K 252 von Weißklee
	L 508 von Luzerne	K 492 von Weißklee	
Lathyrus odoratus	+	–	+
Lathyrus tingitanus	+	+	+
Lupinus albus	+	–	+
Medicago media	+	...	+
Medicago lupulina	...[1])	+	+
Phaseolus vulgaris	+	+	+
Pisum sativum	+	+	+
Pisum sativum Sorte Perfection	+	+	+
Soja max	+	...	–
Trifolium hybridum	+	?	+
Trifolium incarnatum	+	+	+
Trifolium pratense	+	...	+
Trifolium repens	–[2])	+	+
Vicia faba var. *minor*	+	+	+
Vicia villosa	+	+	+
Nicotiana tabacum Sorte Samsun	+	+	–
Nicotiana glutinosa	+	+	–
Datura stramonium	+	+	–
Spinacia oleracea	...[2])	...	–
Cucumis sativus	–[2])	...	–

[1]) Nicht geprüft.
[2]) Mit anderen Luzerne-Isolaten positive Infektion erzielt.

stand das Weißkleevirus einer Verdünnung auf 1 : 100 000 und wurde erst bei 1 : 1 Million inaktiviert; seine Beständigkeit in vitro betrug mehr als 20 Tage. Der thermale Inaktivierungspunkt lag etwas über 58 °C. Beständigkeit in vitro und Verdünnungsendpunkt liegen damit wesentlich höher als beim LMV.

Beobachtungen über die Verbreitung des Luzernemosaiks im Freiland

Die Ausbreitung und die wirtschaftliche Bedeutung des Luzernemosaikvirus sind bislang in Westdeutschland noch nicht zu beurteilen. Die Beobachtung, daß junge Luzernefelder, die vor allem in Niedersachsen besichtigt wurden, relativ wenig unter dem Befall zu leiden scheinen, darf nicht verallgemeinert werden, solange nähere Untersuchungen fehlen; dabei ist auch der sommerlichen Maskierung der Krankheitssymptome Rechnung zu tragen. Stärkerer Befall wurde jedoch an verschiedenen Orten in mehrjährigen, teilweise auch überalterten bäuerlichen Luzerneschlägen und an älterem Zuchtgartenmaterial beobachtet. In solchen Beständen fällt bereits das lückige

und sehr ungleiche Wachstum der einzelnen Pflanzen auf, wobei neben den eigentlichen Mosaikzeichnungen auch stärkere Wuchsstauchungen, Blattkräuselungen und -deformationen vorhanden sind. Nach mündlicher Mitteilung durch Herrn Reg.-Rat Dr. BODE findet sich das Luzernemosaik auch in Luzerneeinsaaten in Rebenanlagen westdeutscher Weinbaugebiete verbreitet und konnte auch aus Material von dort isoliert werden. Bei weiteren Beobachtungen wird es notwendig sein, die Verbreitung des Virus auch auf anderen Wirtspflanzen zu beachten. Es ist zu vermuten, daß einige früher beobachtete Viruserscheinungen, die seinerzeit nicht näher untersucht werden konnten, möglicherweise durch das Luzernemosaikvirus verursacht worden waren. So wurden uns aus einem Zuchtbetriebe in Westfalen kranke Paprikapflanzen mit ± leuchtend gelben, kalikoartigen Mosaikzeichnungen vorgezeigt. Eine andere, noch näher zu analysierende, künstlich ebenfalls auf Tabak übertragbare Mosaikkrankheit der Petersilie, die wir in Westdeutschland antrafen, läßt ebenfalls eine Mitwirkung dieses Virus vermuten; die leuchtend gelben Mosaikfleckungen dieser Virose erinnern an ein Selleriemosaik, das SNYDER und RICH (1942) bei Übertragung eines Luzernemosaikstammes auf Sellerie erhielten.

Auch für die Luzerneanbaugebiete im nördlichen Italien liegen Hinweise auf eine Übertragung des Luzernemosaikvirus von *Medicago sativa* auf andere Wirtsarten vor. Auf solchen Kulturen ist der wirtschaftliche Schaden dann oft augenfälliger als auf der Luzerne selbst. Besonders häufig beobachtete GRANCINI (1954, ergänzt durch briefliche Mitteilungen aus den Jahren 1952 bis 1954) eine auffallende, leuchtend gelbe Mosaikfleckung auf Pfeffer, vor allem bei großfrüchtigen Sorten. Die Früchte sind oft sehr deformiert, nur schwach entwickelt und in ihrem Handelswert dadurch erheblich vermindert. Auf ein offenbar damit identisches „mosaico del peperone" im gleichen Gebiet um Mailand hatte bereits AJROLDI 1939 hingewiesen. Die von GRANCINI abgebildeten Blätter kranker Paprikapflanzen (1954, S. 25) entsprechen symptomatologisch völlig den von uns auf Paprika experimentell erzielten Befallsbildern durch das Luzernemosaikvirus.

Auch auf Kartoffeln wurden in Norditalien gelbe Blattsymptome, besonders an den Rändern von Feldern in der Nachbarschaft von Luzerneschlägen, beobachtet. Es bleibt zu untersuchen, ob es sich auch hier um einen Befall durch das Luzernemosaikvirus handelt, wie er in den Untersuchungen von PORTER (1931), BLACK und PRICE (1940) und OSWALD (1950) für das Kartoffel-Kaliko in Nordamerika nachgewiesen ist. Für Europa hat KOVACHEVSKY (1942 b) das Vorkommen des Luzernemosaikvirus auf kalikokranken Kartoffeln in Bulgarien bestätigen können.

Literaturübersicht

Eine Mosaikkrankheit der Luzerne wurde erstmals von WEIMER (1931, 1934) beschrieben und ihre Übertragbarkeit durch Blattläuse nachgewiesen. Nähere Untersuchungen dieses Luzernemosaikvirus wurden 1934 von PIERCE und 1935 von ZAUMEYER und WADE veröffentlicht, die das Virus durch Saftverreibung auf zahlreiche Leguminosenarten übertragen konnten. Auf *Phaseolus vulgaris*-Varietäten wurden charakteristische lokale Nekrosen

erzielt, darüber hinaus ließen sich auch Tabak, *Nicotiana glutinosa* und *Petunia hybrida* erfolgreich infizieren. ZAUMEYER (1938) grenzte dann in einer ausführlichen Untersuchung das Luzernemosaikvirus von einer Strichelkrankheit der Erbse ab. Eine eingehende Untersuchung der chemischen und physikalischen Eigenschaften des Luzernemosaikvirus-Eiweißes führte ROSS (1941) durch. Danach besaß das LMV kugelige Teilchen von etwa 16,5 mμ Größe, das nucleinsäurehaltige Protein hatte eine Sedimentationskonstante von 74×10^{13} und ein Molekulargewicht von 2 Millionen. Stammten die Isolate bisher von Luzerne — wenngleich PIERCE (1937) das LMV bereits auf Rotklee und Steinklee natürlich nachgewiesen hatte —, so wurde in den folgenden Jahren die Kenntnis der durch das LMV natürlich befallenen Pflanzenarten bedeutend erweitert. BLACK und PRICE wiesen 1940 als Ursache der Kartoffel-Kaliko- (potato calico-) Krankheit einen Stamm des LMV nach und bezeichneten ihn als *Marmor medicaginis* H. var. *solani*. Eine weitere Kartoffelkrankheit durch einen Stamm des Luzernemosaikvirus, das „tuber-necrosis"-Virus, analysierte OSWALD (1950) in Kalifornien. Befallene Kartoffelpflanzen zeigten bei dieser Virose Nekrosen an Haupttrieben, Stielen und Blattadern. Auch im Inneren der Knollen entwickelten sich auffallende Gewebsnekrosen. Ein abweichender Stamm des Luzernemosaikvirus verursacht nach MILBRATH (1952) auf Kartoffel das „potato calico dwarf" und läßt sich auf Bountiful-Bohne mit einem hellgoldfarbenen systemischen Blattmosaik übertragen. In Bulgarien führte KOVACHEVSKY (1942 a, b) eine Pfeffer- und Paprikakulturen schädigende Virose, das chilli mosaic oder die Buntblättrigkeit, auf das LMV zurück. Desgleichen isolierte BERKELEY (1947) dieses Virus in Ontario von kranken Pfefferpflanzen (*Capsicum frutescens*). Die Anfälligkeit des Sellerie für das LMV hatten SNYDER und RICH (1942) nachgewiesen. Seit E. M. JOHNSON (1946) das Luzernevirus als Erreger einer Mosaikkrankheit des Weißklees (*Trifolium repens* L.) angetroffen hatte, wurde sein Vorkommen wiederholt und auf verschiedenen Kleearten diagnostiziert. KREITLOW und PRICE (1949) beschrieben einen Stamm, das yellow patch-Virus (*Marmor medicaginis* H. var. *Ladino* K. et P.) von mosaikkrankem Ladinoklee (*Trifolium repens* L. var. *Ladino*) aus dem Nordosten der Vereinigten Staaten; FRY (1952) isolierte das LMV in Neuseeland außer von Luzerne noch von Weißklee, Rotklee und *Trifolium fragarifolium*. In Holland analysierten OSWALD, ROZENDAAL und VAN DER WANT (1955) das LMV von Luzerne, Weißklee und Gelbklee (*Medicago lupulina*) und wiesen seine Verwandtschaft mit einem kalifornischen Stamm dieses Virus nach. Gleichzeitig stellten sie fest, daß das LMV mit dem Kartoffel-Aucuba-Mosaikvirus trotz symptomatologischer Ähnlichkeiten auf Kartoffel nicht identisch ist. Schließlich ist auch die Gartenbohne (*Phaseolus vulgaris*) mehrfach als natürlicher Wirt des LMV gefunden worden. Daß die Gartenbohne nicht in allen Fällen nur mit lokalen Nekrosen reagiert, hatten schon JOHNSON (1946) und MCWHORTER (1949) gezeigt. Auch HOUSTON und OSWALD (1953) unterschieden bei Isolaten von Luzerne, Ladino-Weißklee und Kartoffel zwei LMV-Typen, die sie nach ihrem Vermögen zu nur lokaler oder auch systemischer Infektion auf Bountiful-Buschbohnen als „local lesion alfalfa mosaic virus" und als „systemic alfalfa mosaic virus" beschrieben. Systemische Blattfleckung rief auch ZAUMEYERS „alfalfa yellow mosaic"-Virus (1953) auf Bohnen hervor. THOMAS (1951) berichtet über das natürliche Vorkommen eines ähnlichen Stammes auf Buschbohnen und nennt ihn „yellow dot"-Virus oder *Marmor medicaginis* H. var. *phaseoli*. Dieses Virus erzeugt ein systemisches Mosaik mit verstreuten gelben Flecken; möglicherweise steht eine rotbraune Verfärbung der Hülsen, die THOMAS (1953) beschreibt, mit diesem Stamm des Luzernemosaikvirus im Zusammenhang.

Auf die Verwendbarkeit von Tomaten und *Vigna sinensis* für die Diagnose des Luzernemosaikvirus sowie zur Trennung seiner Stämme wurde schließlich von MILBRATH und MCWHORTER (1953, 1954) hingewiesen.

Besprechung der Ergebnisse

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Virusisolate von Luzerne und das verwandte Isolat K 492 von Weißklee wurden nach den dargestellten Befunden als Luzernemosaikvirus bestimmt. Die auf Buschbohnen

vorwiegend nur lokale Symptome hervorrufenden Isolate von Luzerne können als *Marmor medicaginis* H. var. *typicum* BLACK and PRICE (1940) aufgefaßt werden; der von Weißklee isolierte LMV-Stamm hat auf Buschbohnen jedoch in stärkerem Maße systemische Scheckungs- und Nekroseerscheinungen zur Folge und entspricht darin etwa dem von JOHNSON (1946) von Weißklee untersuchten LMV-Stamm, ferner dem Alfalfavirus N (MCWHORTER 1949) und dem „systemic alfalfa mosaic"-Virus von HOUSTON und OSWALD (1953). Wie das Luzernemosaikvirus der Literatur waren auch die von uns analysierten Herkünfte zu Tabak, anderen Solanaceen sowie zahlreichen weiteren Wirtsarten außerhalb der Familie der Leguminosen übertragbar. Das LMV unterscheidet sich dadurch deutlich von den meisten Leguminosenviren, wie z. B. dem *Phaseolus*-Virus 1 und 2, *Pisum*-Virus 1 und 2, dem Virus des Echten Ackerbohnenmosaiks (QUANTZ 1953) und dem Weißkleeviruskomplex. Größere Ähnlichkeit mit dem LMV weisen dagegen das Gurkenmosaikvirus und das Ringspotvirus (Bukettvirus) der Kartoffel auf. Mit beiden Viren zeigte unser Luzernemosaikvirus im Prämunitätsversuch jedoch keine Verwandtschaft. Zum weiteren Unterschied vom Gurkenmosaik führt das LMV auf *Chenopodium quinoa* zu einem systemischen Befall, während das Gurkenmosaikvirus nur lokale Läsionen erzeugt. Vom Ringspotvirus unterscheidet sich das LMV durch symptomatologische Merkmale etwa auf Tabak, Buschbohne, Ackerbohne (*Vicia faba*) sowie dadurch, daß es nach Literaturangaben (vgl. SWENSON 1952) leicht durch Blattläuse zu übertragen ist. Eigene Versuche mit Insektenübertragungen wurden nicht angestellt. Als Erreger einer Mosaikkrankheit des Weißklees in Deutschland haben wir neben dem Luzernemosaikvirus noch ein andersartiges Weißkleevirus nachgewiesen. Das LMV und dieses Weißkleevirus sind voneinander durch ihre Beständigkeit in vitro und ihre Verdünnungsendpunkte zu unterscheiden. Außerdem ist das Weißkleevirus nicht wie das LMV auf Tabak und zahlreiche weitere Wirtsspezies außerhalb der Familie der Leguminosen übertragbar.

Dieses Weißkleevirus (Isolat K 252) ist eher in den Kreis des white clover-Virus 1 (PIERCE 1935, ZAUMEYER und WADE 1935, v. d. WANT 1954) oder *Trifolium virus* 1 Smith zu stellen. Das amerikanische Weißkleevirus wurde 1942 von F. JOHNSON in zwei Komponenten, das pea wilt-Virus und das durch *Cuscuta*-Passage davon abzutrennende pea mottle-Virus unterteilt. Bei dem Weißklee-Isolat K 252 haben wir nicht näher geprüft, ob etwa ein Virusgemisch vorlag. Dieses Weißkleevirus ergab andererseits keine Infektion auf Gurke, Spinat, *Stellaria media und* Löwenmaul (*Anthirrhinum majus*), auf die sich das pea mottle-Virus von F. JOHNSON übertragen ließ. Wirtspflanzenkreis und Eigenschaften unseres Weißkleevirus weisen daher vorläufig am ehesten auf die vom pea wilt-Virus (*Marmor repens* F. JOHNSON) dargestellte Komponente des Weißkleevirus-Komplexes.

Auf Luzerne wurde neben der Mosaikkrankheit in jüngster Zeit in Nordwestdeutschland das Vorkommen einer Blattrollkrankheit erkannt (QUANTZ und VÖLK 1954), die in Holland als „topvergeling" beschrieben wird (DE FLUITER und HUBBELING 1955). Darüber hinaus ergaben unsere Feldbeobach-

tungen Anhaltspunkte für das Vorkommen einer weiteren Luzernevirose, die eine ungewöhnlich starke Verzwergung verursacht und symptomatologisch Ähnlichkeit mit der Hexenbesen- oder witches' broom-Krankheit der Luzerne in Nordamerika aufweist. Diese beiden Virosen — wie auch die Zwergkrankheit (dwarf) der Luzerne in den USA — sind aber nicht mit dem Saft übertragbar und erlauben schon dadurch eine Abtrennung des Luzernemosaiks.

Zusammenfassung

Aus Herkünften mosaikbefallener Luzernepflanzen aus Westdeutschland und Norditalien, sowie von mosaikkrankem Weißklee, wurde ein Virus beschrieben, das dem Luzernemosaikvirus (*Marmor medicaginis* Holmes) entspricht. Die besonders bei mäßigen Temperaturen hervortretenden Symptome auf Luzerne umfassen gelbe Blattfleckungen, Ringzeichnungen oder helle parallele Streifungen längs der Seitenadern sowie Blattkräuselungen und Wuchsstauchungen.

Das Virus ließ sich durch Saftverreibung sowie durch Pfropfung übertragen. Auf Gartenbohne rief es meistens nur lokale Nekrosen, der Stamm von Weißklee in der Regel auch systemische Symptome hervor. Weitere Wirtspflanzen waren vor allem *Vicia faba, Pisum sativum, Lupinus albus, Medicago sativa, Soja max, Lathyrus odoratus, Vicia villosa, Vigna sinensis, Trifolium hybridum, T. incarnatum, T. pratense, T. repens.* Ferner gelang die Übertragung auf zahlreiche Arten außerhalb der Leguminosen, insbesondere auf *Nicotiana tabacum, N. glutinosa, Datura stramonium, Capsicum annuum, Petunia hybrida, Cucumis sativus, Zinnia elegans, Helianthus annuus, Chenopodium quinoa, Tetragonia expansa* und *Clarkia* spec.

Die Inaktivierungstemperatur lag um 60 ° C, die Verdünnungsgrenze zwischen 1 : 5000 und 1 : 10 000; die Beständigkeit in vitro betrug 72 Stunden, bei einem Isolat auch 96 Stunden.

In Prämunitätsversuchen erwiesen sich die Isolate unter sich als verwandt, besaßen aber keine Schutzwirkung gegenüber dem Gurkenmosaikvirus sowie einem Ringfleckenvirus und einem Tabaknekrosevirus von Buschbohne.

Von Weißklee wurde noch ein zweites Virus isoliert, das sich von dem Luzernemosaikvirus u. a. durch seine fehlende Übertragbarkeit auf Tabak und weitere Nichtleguminosen unterschied. Es besaß gegenüber dem LMV eine höhere Verdünnungsgrenze (zwischen 1 : 100 000 und 1 : 1 Million) sowie eine größere Beständigkeit in vitro (über 20 Tage) als das Luzernemosaikvirus. Der thermale Inaktivierungspunkt lag etwas über 58 ° C. Es besteht eine Ähnlichkeit mit dem amerikanischen Weißkleemosaikkomplex, insbesondere mit dem pea wilt-Virus von F. Johnson.

Feldbeobachtungen weisen auf eine weitere Verbreitung des Luzernemosaiks in Westdeutschland und — nach Angaben von Dr. Grancini — in Norditalien hin. Die natürliche Übertragung auf andere Wirtspflanzen (Paprika, Kartoffel, Klee und vielleicht auch Petersilie) wird besprochen.

Literaturverzeichnis

AJROLDI, P., 1939: Il mosaico del peperone. Riv. Pat. Veg. **29**, 9—10, 399—422.

BERKELEY, G. H., 1947: A strain of the alfalfa mosaic virus on pepper in Ontario. Phytopathology **37**, 781—789.

BLACK, L. M. and PRICE, W. C., 1940: The relationship between viruses of potato calico and alfalfa mosaic. Phytopathology **30**, 444—447.

DOOLITTLE, S. P. and ZAUMEYER, W. J., 1953: A pepper ringspot caused by strains of cucumber mosaic virus from pepper and alfalfa. Phytopathology **43**, 333—337.

DE FLUITER, H. J. en HUBBELING, N., 1955: Waarnemingen over topvergeling bij erwten. T. Plantenziekt. **61**, 165—175.

FRY, P. R., 1952: The occurrence of lucerne mosaic virus in New Zealand. N. Zeal. J. Sci. Techn. Sect. A **34**, 320—326.

GRANCINI, P., 1954: Osservazioni su alcune malattie da virus delle piante. Conferenza Società Agraria di Lombardia l'8 Maggio 1954. 32 S. Milano.

HOLLINGS, M., 1955: Investigation of chrysanthemum viruses 1. Aspermy flowers distortion. Ann. appl. Biol. **43**, 86—102.

HOUSTON, B. R. and OSWALD, J. W., 1953: The mosaic virus disease complex of Ladino clover. Phytopathology **43**, 271—276.

JOHNSON, E. M., 1946: Two legume viruses transmissible to tobacco. Phytopathology **36**, 142—147.

JOHNSON, F., 1942: The complex nature of white-clover mosaic. Phytopathology **32**, 103—116.

KLINKOWSKI, M.: in KÖHLER, E. und KLINKOWSKI, M., 1954: „Viruskrankheiten", Handb. Pflanzenkrankheiten, Bd. II. 6. Aufl. Berlin.

KÖHLER, E., 1952: Die Bukettkrankheit, eine Viruskrankheit der Kartoffel. Phytopath. Z. **19**, 284—294.

KOVACHEVSKY, I. C., 1942 a: Die Viruskrankheiten der Paprikapflanze (Bulgarisch mit deutscher Zusammenfassung). Arch. Bulgar. Landw. Ges. (Pflanzenbau) **1**, 25—102.

— —, 1942 b: Die Buntblättrigkeit der Paprikapflanze (*Capsicum annuum*) (*Medicago virus* 2 K. Smith var. *typicum* Black and Price). Z. Pflanzenkrankh. **52**, 533—540.

KREITLOW, K. W. and PRICE, W. C., 1949: A new virus disease of Ladino clover. Phytopathology **39**, 517—528.

MILBRATH, J. A., 1952: Variations in potato calico caused by strains of alfalfa mosaic. Phytopathology **42**, 516 (Abstr.).

— — and MCWHORTER, F. P., 1953: The reaction of tomato varieties to various strains of alfalfa mosaic virus. Phytopathology **43**, 479 (Abstr.).

— — and — —, 1954: Response of cowpea varieties to strains of alfalfa mosaic virus. Phytopathology **44**, 498 (Abstr.).

OSWALD, JOHN W., 1950: A strain of the alfalfa-mosaic virus causing vine and tuber necrosis in potato. Phytopathology **40**, 973—991.

— —, ROZENDAAL, A. and VAN DER WANT, J. P. H., 1955: The alfalfa mosaic virus in the Netherlands, its effect on potato and a comparison with the potato aucuba mosaic virus. Proceed. 2nd Conf. potato virus diseases Lisse-Wageningen 1954, 137—147.

PIERCE, W. H., 1934: Viroses of the bean. Phytopathology **24**, 87—115.

— —, 1937: Legume viruses in Idaho. Phytopathology **27**, 836—843.

PORTER, D. R., 1931: The infectious nature of potato calico. Hilgardia **6**, 277—294.

PRICE, W. C., 1934: Isolation and study of some yellow strains of cucumber mosaic. Phytopathology **24**, 743—761.

— —, 1940: Comparative host ranges of six plant viruses. Amer. J. Bot. **27**, 530—541.

Quantz, L., 1952: Untersuchungen über das Erbsenvirus 1 („Enation"-Mosaik-Virus). I. Seine Wirtspflanzen, Ausbreitung und Überwinterung. Nachr.Bl. Deutsch. Pflanzenschutzd. Braunschweig **4**, 24—27.

— —, 1953: Untersuchungen über ein samenübertragbares Mosaikvirus der Ackerbohne (*Vicia faba*). Phytopath. Z. **20**, 421—448.

— —, 1955: Ein Ringfleckenvirus von Buschbohnen. Phytopath. Z. **23**, 209—220.

— — und Völk, J., 1954: Die Blattrollkrankheit der Ackerbohne und Erbse, eine neue Viruskrankheit bei Leguminosen. Nachr.Bl. Deutsch. Pflanzenschutzd. Braunschweig **6**, 177—182.

Ross, A. F., 1941: Purification and properties of alfalfa-mosaic virus protein. Phytopathology **31**, 394—410.

Smith, K. M., 1937: A textbook of plant virus diseases. London.

Snyder, W. C. and Rich, Saul, 1942: Mosaic of celery caused by the virus of alfalfa mosaic. Phytopathology **32**, 537—539.

Swenson, K. G., 1952: Aphid transmission of a strain of alfalfa mosaic virus. Phytopathology **42**, 261—262.

Thomas, H. R., 1951: Yellow dot, a virus disease of bean. Phytopathology **41**, 967—974.

— —, 1953: Isolation of alfalfa mosaic virus strains from fieldgrown beans. Plant Dis. Rep. **37**, 390—391.

Uschdraweit, H. A., 1955: *Chenopodium quinoa* als Testpflanze für das Gurkenmosaik. Nachr.Bl. Deutsch. Pflanzenschutzd. Braunschweig **7**, 151—152.

Van der Want, J. P. H., 1954: Onderzoekingen over virusziekten van de boon (*Phaseolus vulgaris*). Diss. Wageningen.

Weimer, J. L., 1931: Alfalfa mosaic. Phytopathology **21**, 122—123 (Abstr.).

— —, 1934: Studies on alfalfa mosaic. Phytopathology **24**, 239—247.

McWhorter, F. P., 1949: Alfalfa virus N. Phytopathology **39**, 861 (Abstr.).

Zaumeyer, W. J., 1938: A streak disease of peas and its relation to several strains of alfalfa mosaic virus. J. Agric. Res. **56**, 747—772.

— —, 1953: Alfalfa yellow mosaic virus systemically infectious to beans. Phytopathology **43**, 38—42.

— — and Wade, B. L., 1935: The relationship of certain legume mosaics to bean. J. Agr. Res. **51**, 715—749.

Während der Drucklegung vorstehender Arbeit erschien:

Klinkowski, M., 1956: Chlorophylldefekte des Luzerneblattes, unter besonderer Berücksichtigung des Luzernemosaikvirus (*Marmor medicaginis* Holmes). Phytopath. Z. **26**, 377—400.

Auf die Ergebnisse dieser Veröffentlichung konnte leider nicht mehr eingegangen werden.

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für physiologische Botanik und Institut für landwirtschaftliche Virusforschung, Braunschweig

Elektronenmikroskopische Untersuchung der Sporenoberfläche einiger *Ustilago*-Arten[1])

Von

M. Hille und J. Brandes

Mit 11 Abbildungen

Die Oberflächenbeschaffenheit der Sporenmembran ist seit jeher ein morphologisches Charakteristikum der *Ustilaginales* gewesen. Die Sporenoberfläche erscheint im Lichtmikroskop glatt, bestachelt oder mit netzartig angeordneten Leisten überzogen, Merkmale, die von Ainsworth und Sampson (1950) auch zur Aufschlüsselung der Gattung *Ustilago* verwendet wurden. Während man im Lichtmikroskop auf den Sporen netzartige Leisten wie auch grobe Stacheln noch gut erkennen kann, läßt sich — selbst mit Ölimmersion — bei manchen *Ustilago*-Arten nur schwer entscheiden, ob die Sporenmembranen völlig glatt, granuliert oder fein bestachelt sind; die Größe der Stacheln oder Warzen liegt teilweise bereits unter dem Auflösungsvermögen des Lichtmikroskops. Es erschien uns deshalb aufschlußreich, mit Hilfe des Elektronenmikroskops eine vergleichende Untersuchung der Sporen einiger *Ustilago*-Arten durchzuführen.

Im folgenden zeigen Aufnahmen des Sporenrandes Höhe und Durchmesser eventuell vorhandener Stacheln oder Warzen. Da die Sporen im Elektronenmikroskop nicht durchstrahlt werden, haben wir außerdem Oberflächenabdrücke hergestellt. Die Auflösung dieser Abdrücke ist nur

[1]) Herrn Prof. Dr. Richter, Herrn ORR. Dr. Hassebrauk und Herrn Dr. Niemann danken wir für die Bereitstellung von Sporenmaterial. Den Farbenfabriken Bayer AG. sind wir für die Überlassung von Triafol zu Dank verpflichtet.

gering, da die Abdruckfolie im Verhältnis zur Höhe der Stacheln zu dünn ist. Die Verteilung der Stacheln und Warzen oder die Ausbildung von Leistenstrukturen ist jedoch deutlich zu erkennen. Alle Aufnahmen sind bei einer Vergrößerung von 5000× wiedergegeben, mit Ausnahme einer Spore von *U. longissima* (15 000×).

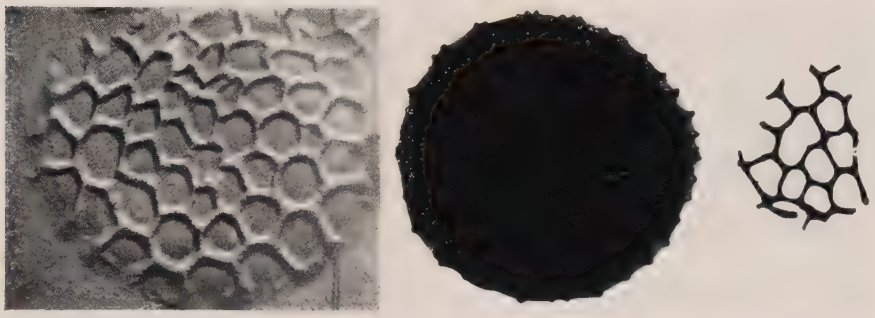


Abb. 1. *Ustilago violacea* (Pers.) Fuckel von *Melandrium album*. Rechts ein zufällig erhaltenes Fragment einer Spore

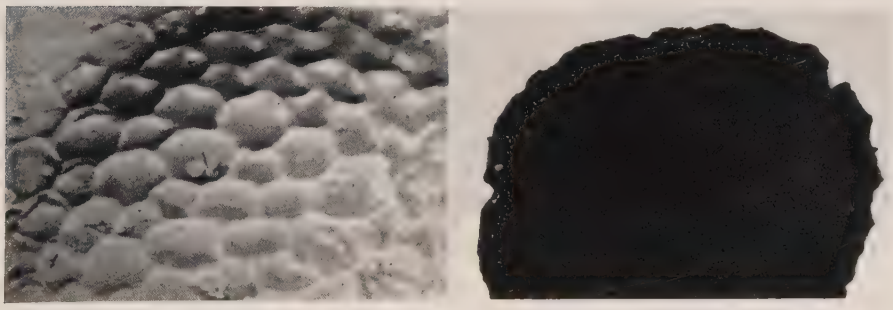


Abb. 2. *U. tragopogonis-pratensis* (Pers.) Roussel von *Tragopogon pratensis*

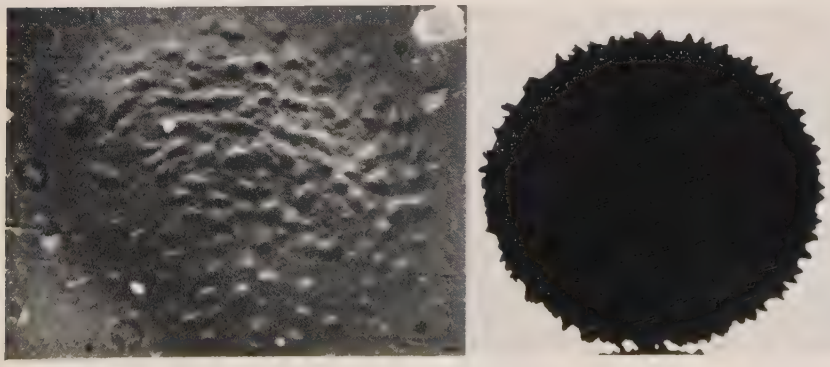


Abb. 3. *U. striiformis* (Westend.) Niessl von *Dactylis glomerata*

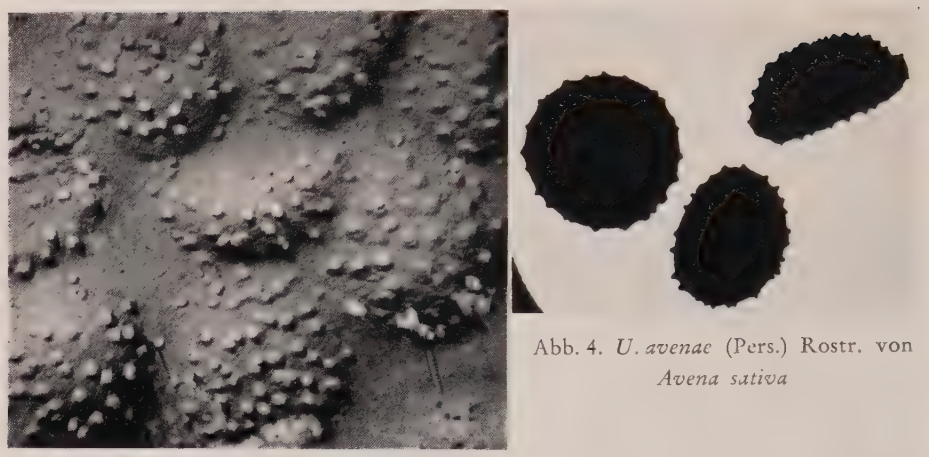


Abb. 4. *U. avenae* (Pers.) Rostr. von *Avena sativa*

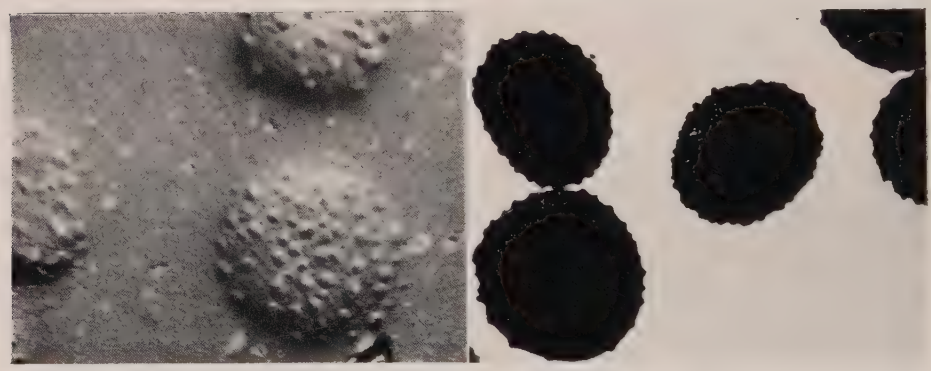


Abb. 5. *U. perennans* Rostr. von *Arrhenatherum elatius*. *U. avenae* und *U. perennans* werden von FISCHER und HOLTON (1941) auf Grund ihrer biologischen und morphologischen Ähnlichkeit als Rassen einer Art aufgefaßt, die den Namen *U. avenae* beibehält. Das elektronenoptische Bild der Sporenoberfläche zeigt eine etwas markantere Bestachelung an Sporen von *U. avenae*. Es mag aber dahingestellt bleiben, ob sie zu einer Trennung der beiden Arten vom morphologischen Gesichtspunkt aus hinreicht

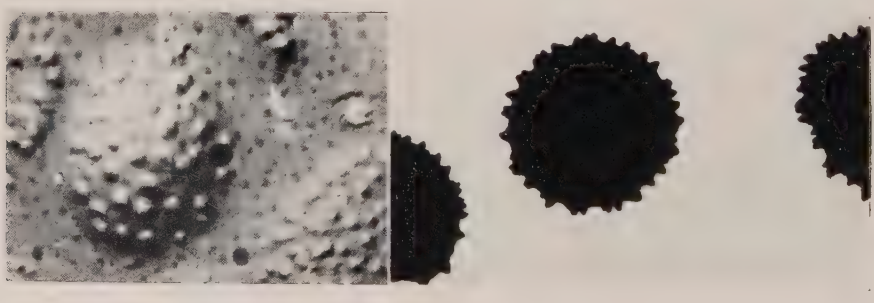


Abb. 6. *U. nuda* (Jens.) Rostr. von *Hordeum sp. cult.*

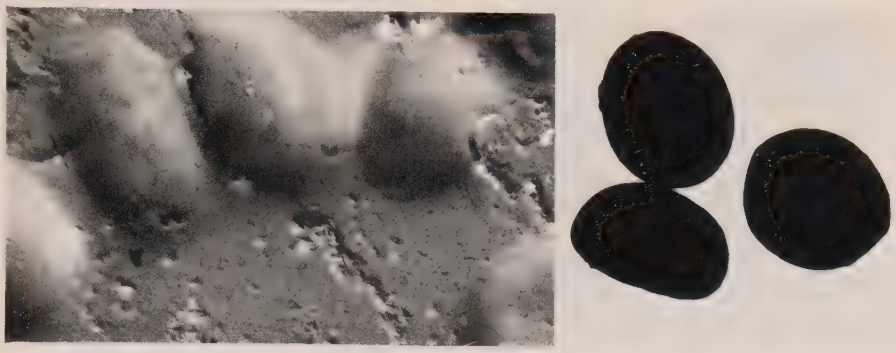


Abb. 7. *U. hordei* (Pers.) Lagerh. von *Hordeum sp. cult.*

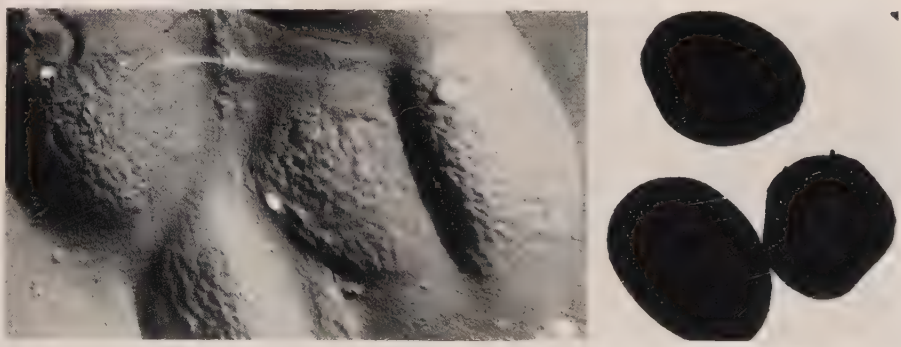


Abb. 8. *U. levis* (Kellerm. et Swing.) Magnus von *Avena sativa*. *U. hordei* und *U. levis* werden von FISCHER (1943) zu einer Art zusammengefaßt, die den Namen *U. hordei* weiterführt. Die Sporenmembran erweist sich entsprechend den bisher gewonnenen Feststellungen bei beiden Arten auch unter dem Elektronenmikroskop als glatt. Die leichte Runzelung auf den *U. levis*-Sporen ist möglicherweise auf das Alter des Sporenmaterials (49 Jahre!) zurückzuführen

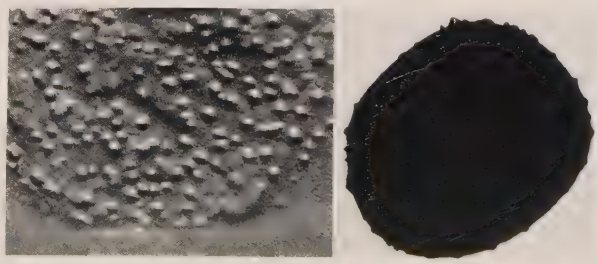


Abb. 9. *U. grandis* Fries von *Phragmites communis*. Die Sporen dieser Art werden von AINSWORTH und SAMPSON (1950) als "... smooth (or, under an oil immersion objective, granular)" und von FISCHER (1953) wie folgt beschrieben: "exospore, under oil immersion, seen to be very finely echinulate". Aus dem elektronenmikroskopischen Bild läßt sich sagen: Warzen flach und weit voneinander entfernt ...

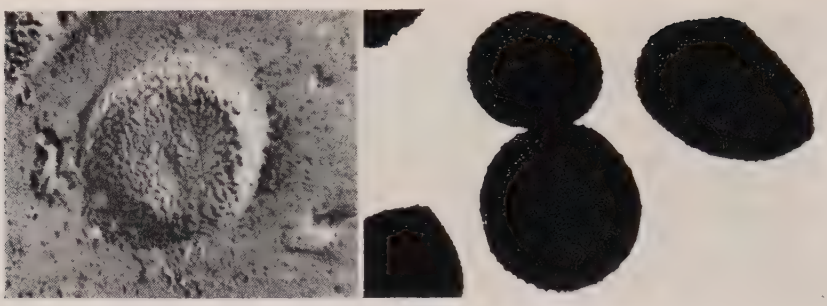


Abb. 10. *U. hypodytes* (Schlecht.) Fries von *Elymus arenarius*. Sporen dieser Art, die sowohl von AINSWORTH und SAMPSON (1950) als auch von FISCHER (1953) als glatt beschrieben werden, zeigen im Elektronenmikroskop deutlich sehr dicht stehende Stacheln, deren Größe allerdings unter dem Auflösungsvermögen des Lichtmikroskops liegt

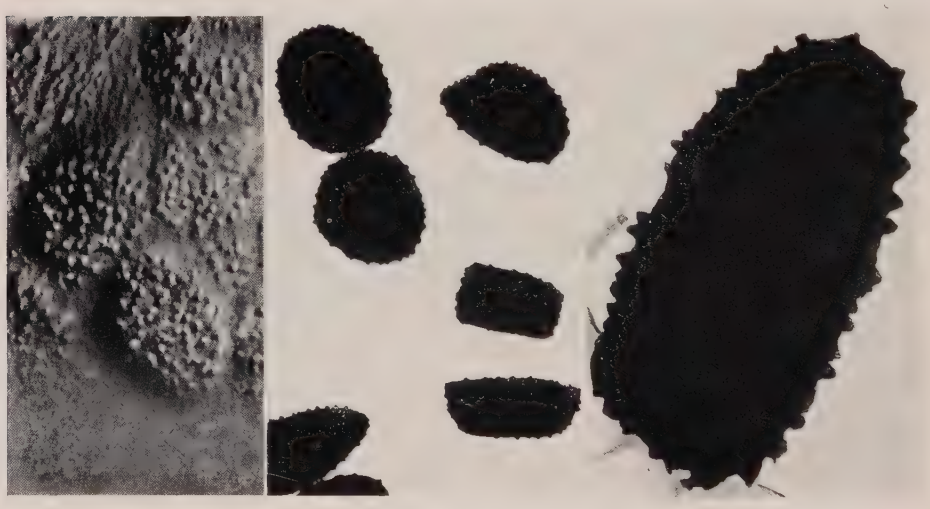


Abb. 11. *U. longissima* (Schlecht.) Meyen von *Glyceria maxima*. Rechtes Bild 15 000 ×. Die Sporenmembran wird von AINSWORTH und SAMPSON (1950) beschrieben als "apparently smooth, but under an oil immersion objective rough or granular", während FISCHER (1953) sie als "minutely and rather sparsely echinulate" ansieht. Nach unseren Aufnahmen sind die Sporen deutlich bestachelt

Abdruckmethode

Als Matrizenmaterial diente Triafol BN 0,2 mm, das bereits von PFISTERER (1953) zu Oberflächenabdrücken verwendet worden war. Triafol-Streifen wurden in einem Gemisch aus 70%igem Alkohol und Aceton (10 : 3) so lange vorgequollen, bis der violette Farbstoff extrahiert war. Nach Aufblasen der Sporen und oberflächlichem Abtrocknen wurden die Streifen zu-

sammengeklappt und gepreßt, bis die Folie getrocknet war. Die Sporen wurden unter fließendem Wasser mit Hilfe eines weichen Pinsels abgespült und von den Matrizen Siliciummonoxyd-Abdrücke hergestellt. Die so erhaltenen Positiv-Abdrücke wurden mit Palladium schrägbedampft.

Zusammenfassung

Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Sporen einiger *Ustilago*-Arten zeigen im wesentlichen Übereinstimmung mit den Beschreibungen, die bisher nur mit Hilfe des Lichtmikroskops gegeben wurden, und können sie im Hinblick auf die Gestalt der Stacheln und Warzen vervollständigen. Sporen von *U. longissima* und *U. grandis*, die im Lichtmikroskop nur schwer beurteilt werden können, besitzen Stacheln bzw. Warzen. *U. hypodytes* hat ebenfalls — im Gegensatz zu den bisher vorliegenden Beschreibungen — fein bestachelte Sporen. Nur die Oberfläche der Sporen von *U. hordei* erwies sich als völlig glatt.

Literaturverzeichnis

Ainsworth, G. C. und Sampson, K., 1950: The British Smut Fungi *(Ustilaginales)*. The Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey.

Fischer, G. W., 1943: Some evident synonymus relationships in certain graminicolous smut fungi. Mycologia **35**, 610—619.

— —, 1953: Manual of the North American Smut Fungi. The Ronald Press Company, New York.

— — und Holton, C. S., 1941: Inheritance of sorus characters in hybrids between *Ustilago avenae* and *Ustilago perennans*. Mycologia **33**, 555—567.

Pfisterer, H., 1953: Ein Abdruckverfahren zur Abbildung rauher Oberflächen im Elektronenmikroskop. Naturwissenschaften **40**, 106.

Besprechungen

Paech, K. and **Tracey, M. V.**, Modern Methods of Plant Analysis. (Moderne Methoden der Pflanzenanalyse.) Springer, Berlin—Göttingen—Heidelberg. 4. Bd., 1955. XV, 766 S., geb. 145,— DM.

Die Besprechung spezieller analytischer Methoden für einzelne Pflanzeninhaltsstoffe wird mit diesem Band in 18 Kapiteln abgeschlossen. Einige der hier behandelten Stoffgruppen sind bei biochemischen Untersuchungen an kranken Pflanzen besonders zu beachten.

R. L. M. Synge gibt eine Übersicht über die Analytik der Aminosäuren, die im ganzen kurz gehalten ist, wohl im Hinblick auf die zahlreichen anderen Darstellungen dieses Gebietes. Näher ist nur auf die seltenen AS und auf Spezialmethoden eingegangen. Eine kurze, aktuelle, nach der Art des Pflanzenmaterials geordnete Übersicht der Ergebnisse beschließt das Kapitel. — N. W. Pirie streift in einem Beitrag über die Proteine die Methodik nur einführend. Für Pflanzenpathologen besonders wertvoll ist eine sehr vollständige vergleichende Beschreibung der Proteine normaler und viröser Blätter. Abschließend wird auch eine Auswahl verschiedener Enzyme behandelt. — J. Pace wird in einer aktuellen Abhandlung über Samen-Proteine auch den in Pflanzensamen beschriebenen Enzymen voll gerecht. — J. Duckworth beschreibt die Methoden zur Bestimmung des Nährwertes der Proteine. — M. V. Tracey befaßt sich mit dem Harnstoff und seinen Verbindungen. Dabei werden auch Lücken und Unsicherheiten auf diesem Gebiete des Pflanzenstoffwechsels klar herausgestellt, z. B. die geringe Beachtung des Citrullins bei Pflanzen, das im Leberstoffwechsel bei der Harnstoffbildung zentral wichtig ist. — Smith und Benitz geben neben direkt verwendbaren Vorschriften für Präparation, Reinheitsprüfung und Bestimmung des Chlorophylls in pflanzlichem Material auch theoretische Grundlagen der analytischen Methoden. — E. F. Hartree referiert ausführlich über Haematinverbindungen. Alle wichtigen Testmethoden und auch Präparationen sind mit gut durchgearbeiteten Arbeitsvorschriften gebracht. Auch die Enzyme mit Haematinkomponente sind gebührend berücksichtigt. — Für Nukleinsäuren, ihre Bausteine und verwandte Verbindungen bestand hinsichtlich einer umfassenden, kritischen und aktuellen Sammlung von Analysenvorschriften zweifellos eine Lücke. Diese wird durch ein erschöpfendes Referat von R. Markham geschlossen. Auch dieses Kapitel verdient die besondere Beachtung der Pflanzenpathologen. — Ein Beitrag von H. G. Albaum über Adenosin-Diphosphat und -Triphosphat würde an Vollständigkeit gewinnen, wenn er weniger auf das angelsächsische Schrifttum beschränkt wäre. — K. Hasse behandelt ausführlich die analytischen Verfahren zur Bestimmung und die Methoden zur Darstellung der Codehydrasen I und II, die unter den Nukleotiden ein besonderes Interesse beanspruchen dürfen. Da durch die Analyse die Eiweißkörper der Dehydrasen und solcher Enzyme, deren Reaktionen mit den Dehydrierungen gekoppelt sind, auf ihre Aktivität getestet werden können, wird dieses Kapitel allen Pflanzenphysiologen wertvolle Anregungen bringen, die sich mit dem Eiweiß-Stoffwechsel und seinen krankhaften Veränderungen beschäftigen. — In einer Darstellung der Thiamine und ihrer Derivate haben Peters und O'Brien auch ältere Literatur berücksichtigt. — Die Alkaloide werden von B. T. Cromwell erschöpfend behandelt. — Die Amine und Betaine finden durch A. Werle eine moderne umfassende Bearbeitung. Dies ist sehr zu begrüßen, da dieses Gebiet oft im Schatten der aktuelleren AS steht. Für jede Verbindung sind angegeben: Summenformel,

Elementaranalysendaten, Eigenschaften, Derivate, Vorkommen, Isolierung, Nachweis und eine kritische Auswahl verschiedener Bestimmungsmethoden mit durchgearbeiteter Vorschrift. Dabei soll es wohl auf S. 557 statt „Perjodid" immer „Permutit" heißen. Auch dieses Kapitel sollte die besondere Aufmerksamkeit biochemisch interessierter Pflanzenpathologen finden. — Der gleiche Autor bringt kritische und detaillierte Angaben über Gewinnung und Analysenmethoden von Pantothensäure und Coenzym A mit sehr vollständigen Tabellen über ihr Vorkommen im Pflanzenreich. — Von F. M. Strong wird die Methodik für die Bestimmung von Riboflavin, Folinsäure und Biotin mit Diskussion von Fehlerquellen behandelt. Es werden ausführliche Tabellen über das Vorkommen dieser Vitamine in verschiedenen Pflanzenteilen gegeben. — Über Melanine berichtet M. Thomas mit ausführlicher Diskussion der Melaninbildung. — Die für den Pflanzenphysiologen in mannigfacher Hinsicht interessanten Blausäureverbindungen (z. B. Beziehung zur Proteinbildung, zu Chlorose, zu Verletzungen) werden von P. Seifert abgehandelt. Neben qualitativen Nachweis- und quantitativen Bestimmungsmethoden wird eine tabellarische Zusammenstellung der bisher bekannten und in ihrer chemischen Zusammensetzung aufgeklärten Blausäure-Glykoside gebracht. — Ein Kapitel über Senföle, Lauchöle und andere schwefelhaltige Pflanzenstoffe beschließt den Band. A. Stoll und E. Jucker bringen dabei neben den Arbeitsvorschriften für die Analyse und Bestimmung pflanzlicher Schwefelverbindungen auch Hinweise auf die in den letzten Jahren erzielten beträchtlichen Fortschritte in der Phytochemie des Schwefels und eine tabellarische Zusammenstellung der schwefelhaltigen Naturstoffe.

E. Pfeil (Hann.-Münden)

Paech, K. and **Tracey, M. V.,** Modern Methods of Plant Analysis. (Moderne Methoden der Pflanzenanalyse.) Springer, Berlin—Göttingen—Heidelberg. 1. Bd., 1956, XVIII, 542 S., 215 Abb., geb. 108,— DM.

Die im zuletzt erschienenen ersten Band das Gesamtwerk mit 17 Kapiteln einleitende Behandlung der allgemeinen Methoden der Pflanzenanalyse wird von K. Paech † mit einer Darstellung der allgemeinen Maßnahmen und Bestimmungen bei der Aufarbeitung von Pflanzenmaterial begonnen. Der Autor bietet hierbei aus einer souveränen Beherrschung des Stoffes, die den durch das allzu frühe Hinscheiden dieses hervorragenden Pflanzenphysiologen eingetretenen Verlust erneut schmerzlich bewußt macht, eine wirkliche Übersicht und gibt auch an Hand weniger, aber sorgfältig ausgewählter Literaturzitate eine wertvolle Anleitung für experimentelle Arbeiten. — Bei dem anschließenden Beitrag von N. W. Pirie über die Herstellung und Behandlung von Extrakten waren einige Überschneidungen mit dem vorhergehenden Referat nicht zu vermeiden. Alle erforderlichen Arbeitsgänge, auch die elementaren, werden detailliert, zum Teil mit Arbeitsvorschriften gebracht. — R. L. M. Synge bespricht die Methoden der Elektrophorese und Ionophorese und berücksichtigt auch ältere Literatur. Das Prinzip ist sehr kurz abgehandelt, die methodischen Fortschritte und die hierdurch erzielten Ergebnisse sind sehr vollständig zitiert. Der mit diesen Methoden nicht speziell vertraute Leser wird vielleicht eine kritische Sichtung vermissen. — E. Hecker vermittelt sehr klar das Prinzip der multiplikativen Verteilung und macht den Beitrag durch gute Abbildungen der Apparaturen und Beschreibung der Arbeitsvorgänge zu einem Praktikum dieser Methode. Da das von Martin und Synge (1941) sowie Craig (1944) entwickelte, einfache und sehr leistungsfähige Trennungsverfahren zur Auftrennung von Stoffgemischen biologischer Herkunft bei den Grenzwissenschaften noch nicht im erwünschten Maße Eingang gefunden hat, ist diese praktische Einführung für alle Pflanzenphysiologen und -pathologen besonders zu begrüßen. Allerdings werden diese Fachgenossen Anwendungsvorschriften und bei der tabellarischen Zusammenstellung der wichtigsten Stoffklassen, bei denen dies Trennverfahren angewandt wurde, Literaturzitate vermissen. — Auch das von G. Braunitzer behandelte Standardverfahren der chromatographischen Analyse in Säulen wird in Deutschland wohl noch nicht ganz ausgeschöpft. Die hier gebotene sehr umfassende Übersicht über Säulenchromatographie sollte deshalb besondere Beachtung finden. — Ein Kapitel von H. Hellmann vermittelt alles grundsätzlich Wissenswerte über Papierchromatographie. Es werden das methodische Prinzip, die gebräuchlichsten Geräte, die

geeigneten Lösungsmittelsysteme, die Durchführung der verschiedenen Techniken der Papierchromatographie sowie der Sichtbarmachung und der Auswertung der Papierchromatogramme geschildert. Auch dieser Beitrag wird bei der zunehmenden Anwendung dieses bei aller Einfachheit nur in der Hand des erfahrenen Praktikers voll auszuschöpfenden und zuverlässigen Verfahrens für die Fachgenossen aus den Grenzgebieten der Chemie von besonderem Wert sein. — Das wichtige und umfangreiche Gebiet der Kolorimetrie, Absorptions- und Fluoreszenzmessung ist von J. Glover mit außerordentlicher Vollständigkeit dargestellt. Die älteren Kolorimetertypen sind fast ebenso gründlich berücksichtigt wie die modernen Spektralphotometer mit Abbildungen und Schaltskizzen. Arbeitsvorschriften sind nicht gegeben, doch sind die Möglichkeiten des Nachweises, der Bestimmung und der Fehler für viele Stoffklassen in den verschiedenen Spektralbereichen ausführlich diskutiert. Die Herausstellung auch theoretischer Zusammenhänge wird u. a. aus dem Tabellenmaterial deutlich. — In drei Beiträgen werden von Kortüm und Kortüm-Seiler Refraktometrie und Interferometrie, Polarimetrie sowie Nephelometrie behandelt. Dem Biochemiker, der sich mit den optischen Einrichtungen von Ultrazentrifuge und Elektrophorese auseinandersetzen muß, wird das Kapitel Interferometrie sehr nützlich sein. Die übrigen Abschnitte unterrichten in der klaren und verständlichen Form eines Lehrbuches über die genannten Fachgebiete. — J. L. Healy berichtet über die Methodik der Durchführung von biologischen Testen. — Die theoretischen Grundlagen und viele apparative Einzelheiten der Isotopentechnik werden von J. Glover unter Diskussion der Fehlermöglichkeiten erschöpfend dargelegt. Wie im Kapitel Spektroskopie wird auf praktische Beispiele, Ergebnisse oder Arbeitsvorschriften verzichtet. Nur im Unterabschnitt „Autoradiographic methods" ist dies Prinzip durchbrochen. Dort finden sich u. a. wertvolle kritische Hinweise und auch Literaturzitate über die qualitative und quantitative Auswertung von Papierchromatogrammen und histologischen Präparaten. — Die Methodik der pH-Bestimmung wurde von J. Small bearbeitet. Es ist eine Übersicht über alle gebräuchlichen Methoden gegeben, wie sie aus zahlreichen anderen Literaturzusammenfassungen und Monographien bekannt ist. — Bei der Besprechung der Oxydations-Reduktions-Potentiale bringt R. Hill leider keinerlei methodische Hinweise, die gerade auf diesem Gebiete für Biologen sehr erwünscht und nützlich gewesen wären. Das kurze Kapitel ist trotzdem sehr wertvoll durch eine klare Behandlung der theoretischen Grundlagen und sehr vollständige Tabellen (Redoxpotentiale) aus fast allen in Frage kommenden Stoffklassen. — R. H. Kenten bringt eine Zusammenfassung der gasometrisch bestimmbaren Stoffe und kurze, präzise Arbeitsvorschriften für jeden einzelnen von ihnen. — Das in stürmischer Entwicklung begriffene Arbeitsgebiet der cytochemischen Methoden behandelt F. R. Whatley in Form einer Übersicht, die offenbar bewußt in den Einzeldarstellungen sehr kurz bleibt, aber alles Wissenswerte zum mindesten erwähnt. — Der Band wird mit einem Kapitel von E. C. Humphries über mineralische Bestandteile und Aschenanalyse abgeschlossen. Neben allgemeinen Anleitungen wird zur Bestimmung der wichtigsten Kationen und Anionen jeweils eine wohlausgewählte, meist kolorimetrische Mikromethode in klarer, direkt ausführbarer Arbeitsvorschrift angegeben.

Die spezielle Bedeutung, die bestimmten Abschnitten für Pflanzenpathologen zukommt, wurde bereits bei der Einzelbesprechung der behandelten Gebiete hervorgehoben. Darüber hinaus bestätigen die nun vorliegenden beiden letzten Bände die schon bei den vorhergegangenen Teilen vertretene Meinung, daß dieses Werk für alle mit Pflanzenanalysen befaßten Forscher ein aktueller und zuverlässiger Ratgeber ist und für längere Zeit bleiben wird.

E. Pfeil (Hann.-Münden)

HANDBUCH DER LANDWIRTSCHAFT

2. Auflage in fünf einzeln käuflichen Bänden

Unter Mitwirkung von 57 Wissenschaftlern herausgegeben von den Professoren

Dr. Th. Roemer	Dr. A. Scheibe	Dr. J. Schmidt	Dr. E. Woermann
Halle (Saale)	Gießen	Hohenheim	Göttingen

Band I: Ackerbaulehre

1952. 654 Seiten mit 130 Textabbildungen. Ganzleinen DM 66,—

Boden als Standort der Pflanzen · Mikrobiologie des Bodens · Klima und Witterung Meliorationen · Fruchtwechsel · Bodenbearbeitung · Unkrautbekämpfung · Ernährung und Düngung der Pflanzen · Gründüngung · Saat- und Pflanzgut · Pflanzenkrankheiten

Band II: Pflanzenbaulehre

1953. 794 Seiten mit 184 Textabbildungen. Ganzleinen DM 79,—

Getreide der gemäßigten Zone · Mais und Hirse · Getreidequalität, Brot und Nährmittel · Kartoffelbau · Rübenbau · Hülsenfruchtbau · Ölfruchtbau · Feldfutter- und Zwischenfruchtbau · Wiesen und Weiden · Hanf · Faserleinbau · Tabakbau Heil- und Gewürzpflanzenbau · Obstbau · Feldgemüsebau · Hopfenbau

Band III: Allgemeine Tierzuchtlehre

1952. 443 Seiten mit 82 Textabbildungen
Ganzleinen DM 46,—

Band IV: Besondere Tierzuchtlehre

1953. 548 Seiten mit 245 Textabbildungen
Ganzleinen DM 60,—

Band V: Wirtschaftslehre des Landbaues

1954. 792 Seiten mit 34 Textabbildungen
Ganzleinen DM 73,—

Preis des Gesamtwerkes (Ganzleinen): DM 296,—, bei Teilzahlung DM 325,—

Das „Handbuch der Landwirtschaft" ist das umfassendste deutsche Werk der Landwirtschaft, das in der Qualität seines Inhalts und seiner erstklassigen Ausstattung nicht seinesgleichen hat. Es gibt eine vollständige, allgemeinverständlich gehaltene, systematische Einführung zur erfolgreichen Führung eines landwirtschaftlichen Betriebes, die auf den neuesten wissenschaftlichen Forschungen und praktischen Erfahrungen des In- und Auslandes beruht.

„Die Landwirtschaft hat durch die freudige Aufnahme, die sie dem Werk bereitet hat, gezeigt, daß sie ein solches Werk zu schätzen weiß, das ihr in wissenschaftlicher Vollständigkeit, in einer der Praxis entsprechenden, leicht eingehenden Darstellung und einer vorbildlichen Ausstattung die technischen und wirtschaftlichen Grundlagen ihrer Berufsarbeit vermittelt. ... Das Werk bedeutet einen bisher nicht erreichten Gipfel der Landwirtschaftslehre."
Agrarbibliographie

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Handbuch der Pflanzenkrankheiten

Begründet von
PAUL SORAUER

In sechs einzeln käuflichen Bänden herausgegeben von

Prof. Dr. Dr. h. c. O. APPEL †
Geh. Reg.-Rat, Präsident a. D. der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft

Prof. Dr. Dr. h. c. H. BLUNCK
ehem. Direktor des Instituts für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn

Prof. Dr. H. RICHTER
Präsident der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft

II. Band: Die Virus- und bakteriellen Krankheiten

6., neubearbeitete Auflage in 2 Lieferungen

1. Lieferung

Viruskrankheiten

Bearbeitet von Ob.Reg.-Rat Dr. E. KÖHLER und Prof. Dr. M. KLINKOWSKI

1954, 786 Seiten mit 326 Abbildungen, Ganzleinen DM 150,—

Im Sommer 1956 erschien:

2. Lieferung

Bakterielle Krankheiten

Bakteriosen einschließlich Streptomykosen

Bearbeitet von Ob.Reg.-Rat a. D. Dr. C. STAPP, Braunschweig

1956, 575 Seiten mit 179 Abbildungen, Ganzleinen DM 124,—

Die Lieferungen sind einzeln käuflich

Bei Abnahme beider Lieferungen ermäßigt sich der Einzelpreis um 10 %

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Verlag: Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstr. 44-47, Tel. 61 44 68/69. Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Straße 19. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe vorbehalten.

— Erscheinungsweise: Jährlich etwa 10—12 Hefte (4 Hefte = 1 Band).